

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECHNOLOGIA DE ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, DAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E DAS  
PROTEÍNAS DE MILHO CRIOULO (*Zea mays*)**

**NÁDIA CRISTIANE STEINMACHER**

Florianópolis, março de 2005.

**NÁDIA CRISTIANE STEINMACHER**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, DAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E DAS  
PROTEÍNAS DE MILHO CRIOULO (*Zea mays*)**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciência de Alimentos.

**Orientadora: Prof (a). Dra. Alicia de Francisco**  
**Co-orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Alvez**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, DAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS E DAS  
PROTEÍNAS DE MILHO CRIOULO (*Zea mays*)**

Por

**Nádia Cristiane Steinmacher**

Dissertação aprovada como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre no  
Curso de Ciência de Alimentos, pela comissão formada por:

Presidente: \_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Alicia de Francisco

Membro: \_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Maria Victoria Eiras Grossmann

Membro: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ricardo Antunes de Azevedo

Membro: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Antonio Carlos Alves

Coordenador: \_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ernani Sebastião Sant'Anna

**Florianópolis, SC.  
2005**

*Aos meus pais,  
Álvaro e Mirta Steinmacher, pelo amor e incentivo.*

*Aos meus irmãos,  
Douglas e Fernanda, pela amizade e pelas boas risadas.*

*Ao Fernando,  
com muito amor e carinho.*

## **AGRADECIMENTOS**

À Profa. Dra. Alicia de Francisco, por ter confiado em mim, incentivado a realização deste trabalho e aberto tantos caminhos, mas principalmente pela grande amizade e boas conversas;

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Alves pelo convite para trabalhar com variedades locais de milho e pelo incentivo;

Ao técnico do SINTROF, Adriano Cauci pela indicação e ao Prof. Dr. Ricardo Antunes de Azevedo, por ter permitido a realização de parte deste trabalho em seu laboratório, pelas sugestões e apoio;

A Dra. Patrícia Rayas-Duarte pela oportunidade oferecida, pelo carinho e amizade dispensados, e por ter me apoiado e me recebido tão bem em seu laboratório;

A Profa. Dra. Jane M. Block pelas sugestões e pelo empenho em me auxiliar;

Ao Prof. Dr. Ernani Sant'Anna, pela confiança durante a realização de parte deste trabalho;

Ao Coordenador do Centro de Ciências Agrárias, Dr. Pedrotti, pelo apoio financeiro cedido;

Ao Prof. Dr. Valdir Soldi, pelo apoio financeiro e incentivo na realização de parte deste trabalho;

Ao Dr. Luiz Humberto Gomes (Laboratório de Genética de Leveduras – ESALQ) pelas análises dos géis de SDS-PAGE;

Ao Thomaz Setti, grande amigo, por todos os conselhos e oportunidades oferecidas, e também pelas conversas descontraídas;

A toda equipe do CERES, pelos momentos de descontração, amizade e boas risadas, em especial ao Cássio, pelo convívio diário desde o início deste trabalho;

Aos colegas de laboratório na OSU, M. Cristina Escobar, Alejandra, Fadi, Maia, Patrick, KL, Mohamad, por terem sido tão amáveis ao me receber e se disporem sempre em me ajudar;

A toda equipe do laboratório genética e Bioquímica de Plantas (ESALQ), em especial a Georgia Pompeu e Salete Gaziola, por não terem medido esforços para me ajudar;

A toda equipe do laboratório de Físico-química do CAL;

Às minhas amigas Cristiane V. Helm, Rosane M. D. Soares, Leila Falcão e Eliana Gris: Nada disso teria acontecido se não fosse por vocês, pela segurança, incentivo, idéias, mas acima de tudo, pela presença e grande amizade;

À minha amiga Josiane C. Raguzzoni, por tudo que passamos juntas, pelo apoio mútuo nos momentos de desespero e pelo imenso prazer que foi compartilhar experiências, conversas, risadas que jamais irei esquecer;

Às minha amigas: Patrícia e Francielli Zanon, Jully e Grazielli Destefani, Kelly Carvalho, Daniele Graebin, por mostrarem o verdadeiro valor da amizade;

A CAPES e ao CNPQ pelo suporte financeiro;

Ao Secretário do Programa de Pós-graduação Sérgio de Souza pela amizade e prestatividade;

A todos os Professores do PG-CAL pelo aprendizado;

Aos meus pais, Álvaro e Mirta por todo o amor e confiança depositados;

Ao meu irmão Douglas e à minha irmã Fernanda, meus amigos, obrigada pelo amor e por serem tão importantes para mim;

À minha querida Vó Ilga, que amo tanto, que em toda minha vida tem sempre me passado uma alegria imensurável, por ser tão querida e linda;

Aos meus tios Edson, Elmir e Mirian, por terem participado da minha vida sempre, mostrando os caminhos certos;

Aos meus primos Caco e Malu, por sempre me lembrarem como é bom ser criança, e me transmitirem um pouco deste espírito;

À minha cunhada Nádia, por ser sempre tão querida;

Ao Fernando, por ter sido meu maior incentivador, com seu amor, por ter ficado ao meu lado, sempre, e por ser tão importante para mim.

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1 .....</b>	<b>1</b>
1. INTRODUÇÃO.....	2
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. <i>Histórico</i> .....	5
2.2. <i>Taxonomia</i> .....	5
2.3. <i>Milho Crioulo</i> .....	6
2.4. <i>Estrutura do grão de milho</i> .....	6
2.5. <i>Composição química do milho</i> .....	8
2.5.1. <i>Composição química das partes do grão</i> .....	8
2.5.2 <i>Fibra Alimentar</i> .....	9
2.5.3. <i>Lipídios</i> .....	11
2.5.3.1 <i>Ácidos graxos</i> .....	11
2.5.4. <i>Amido</i> .....	12
2.5.4.1. <i>Propriedades térmicas do amido</i> .....	14
2.5.4.2. <i>Propriedades reológicas do amido</i> .....	16
2.5.5. <i>Outros carboidratos presentes no milho</i> .....	21
2.5.6. <i>Proteínas</i> .....	21
2.5.6.1. <i>Proteínas de reserva</i> .....	23
2.5.6.2 <i>Separação e caracterização das proteínas</i> .....	24
2.5.6.3. <i>Aminoácidos</i> .....	25
2.6. <i>Características Físicas</i> .....	26
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
<b>CAPÍTULO 2 .....</b>	<b>39</b>
1. INTRODUÇÃO .....	41
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	42
2.1 <i>Delineamento experimental</i> .....	42



2.2 Análises Químicas.....	43
2.2.1 Ácidos graxos.....	43
2.3 Análises Físicas .....	43
2.4. Microestrutura dos grânulos de amido. ....	44
2.5. Análise de endosperma.....	44
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
4. CONCLUSÃO. ....	51
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	52
<b>CAPITULO 3 .....</b>	<b>55</b>
1. INTRODUÇÃO.....	57
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	58
2.1. <i>Extração das Frações Protéicas.</i> ....	58
2.2. <i>Eletroforese em Gel de Poliacrilamida Desnaturante (SDS-PAGE).</i> .....	59
2.3. <i>Dissimilaridade Genética</i> .....	59
2.4. <i>Liofilização.</i> ....	60
2.5. <i>Eletroforese Capilar de Zona Livre</i> .....	61
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
3.1. <i>Fractionamento do conteúdo protéico do endosperma.</i> ....	62
3.2. <i>Distribuição de Peso Molecular.</i> .....	62
3.3. <i>Dissimilaridade Genética</i> .....	65
3.4 <i>Comparação da Carga Superficial das Frações Protéicas</i> .....	67
4. CONCLUSÃO. ....	69
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	70
<b>CAPITULO 4 .....</b>	<b>73</b>
1. INTRODUÇÃO.....	75

2. MATERIAL E MÉTODOS.....	76
2.1. <i>Propriedades de pasta</i> .....	77
2.2. <i>Firmeza de gel</i> .....	77
2.3. <i>Reologia</i> .....	78
2.4. <i>Delineamento experimental</i> .....	78
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	79
3.1. <i>Propriedades de Pasta</i> .....	79
3.2. <i>Firmeza do gel</i> .....	81
3.3 <i>Propriedades Reológicas</i> .....	83
4. CONCLUSÃO.....	85
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	86
ANEXO.....	90
ALGUMAS SUGESTÕES DE USO.....	92
CONCLUSÃO GERAL.....	94
SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.....	96

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

FIGURA 1	Estrutura física do grão de milho.....	07
----------	--	----

### CAPÍTULO 2

FIGURA 1	Variedades estudadas: 1) Rosado; 2) Roxo; 3) Sol da Manhã; 4) Cunha 01; 5) MPA 13; 6) Amarelão 02; 7) Pixurum 05; 8) Pixurum 06.....	48
FIGURA 2	Aspecto de endosperma sob luz polarizada. a) Rosado; b) Roxo; c) Sol da Manhã; d) Cunha 01; e) MPA 13; f) Amarelão 02; g) Pixurum 05; h) Pixurum 06.....	48
FIGURA 3	Microscopia eletrônica de varredura do endosperma dos cultivares de milho crioulo Rosado (a), Roxo (b), Sol da manhã (c), Cunha 01 (d), MPA 13 (e), Amarelão 2 (f), Pixurum 05 (g) Pixurum 06 (h).....	49

### CAPÍTULO 3

FIGURA 1	SDS-PAGE das frações protéicas das oito variedades de milho crioulo: 1) Rosado, 2) Roxo, 3) Sol da manhã, 4) Cunha 01, 5) MPA 13, 6) Amarelão 02, 7) Pixurum 05, 8) Pixurum 06. a) Albuminas; b) Globulinas; c) Zeína I; d) Zeína II; e) Glutelinas.....	64
FIGURA 2	Dendograma de dissimilaridade genética obtido pelos géis das frações protéicas das oito variedades de milho crioulo: a) Albuminas; b) Globulinas; c) Zeína I; d) Zeína II; e) Glutelinas. 1) Rosado, 2) Roxo, 3) Sol da manhã, 4) Cunha 01, 5) MPA 13, 6) Amarelão 02, 7) Pixurum 05, 8) Pixurum 06.....	66
FIGURA 3	Eletroferograma de subunidades de proteínas das variedades: Rosado (a), Roxo (b), Sol da manhã (c), Cunha 01 (d), MPA 13 (e), Amarelão 2 (f), Pixurum 05 (g) Pixurum 06 (h).....	68

## CAPÍTULO 4

FIGURA 1	Amilograma de RVA de oito amostras de milho crioulo. 1) Rosado, 2) Roxo, 3) Sol da manhã, 4) Cunha 01, 5) MPA 13, 6) Amarelão 02, 7) Pixurum 05, 8) Pixurum 06.....	79
FIGURA 2	Gráfico representativo da análise de textura de gel de amostra de oito cultivares de milho crioulo.....	82
FIGURA 3	Gráficos representativos dos experimentos dinâmicos oscilatórios dos cultivares de milho crioulo: a) Módulo de armazenamento de energia $G'$ ; b) Módulo de perda $G''$ ; c) fator de perda ( $\tan \delta$ ).....	83

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1

TABELA 1	Composição química das principais partes dos grãos de milho.....	09
TABELA 2	Fibras solúvel e insolúvel em grão de milho comum e em MPC.....	10
TABELA 3	Conteúdo de fibras alimentares insolúveis em cinco amostras de grãos inteiros de milho .....	10
TABELA 4	Composição em ácido graxos do óleo do milho.....	12

### CAPÍTULO 2

TABELA 1	Valores médios da composição química de milho crioulo.....	46
TABELA 2	Valores médios de fatores físicos de milho crioulo.....	47
TABELA 3	Coeficientes de correlação entre parâmetros e físicos e químicos.....	47
TABELA 4	Classificação de endosperma segundo luz polarizada.....	48
TABELA 5	Ácidos graxos.....	50

### CAPÍTULO 3

TABELA 1	Concentração das frações extraídas de oito variedades de milho crioulo.....	62
----------	---	----

### CAPÍTULO 4

TABELA 1	Propriedades de pasta de oito cultivares de milho crioulo.....	80
TABELA 2	Firmeza de gel de amostras de oito cultivares de milho crioulo.....	82

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACN	acetonitrila
DTT	ditiotretiol
EC	eletroforese capilar
g	gramas
mg	miligramas
G'	módulo de armazenamento, Pa
G''	módulo de perda, Pa
Tan $\delta$	G''/G'
h	horas
HCl	ácido clorídrico
kDa	quilo Daltons
M <sub>r</sub>	peso molecular
LVR	região viscoelástica linear
min	minutos
mM	milimolar
$\mu$ L	microlitros
NaOH	hidróxido de sódio
NaCl	cloreto de sódio
nm	nanômetros
°C	graus Celsius
Pa	Pascal
SDS	dodecil sulfato de sódio
SDS-PAGE	dodecil sulfato de sódio – eletroforese com gel de poliacrilamida
seg	segundos
UV	ultravioleta
v/v	volume por volume
p/v	peso por volume
cm	centímetros
HMPC	hidrometilpropilcelulose (aditivo polimérico)
$\Delta H_{\text{gel}}$	entalpia de gelatinização

RVA	rapid visco analyser
b.s.	base seca
QPM	quality protein maize
RP-HPLC	cromatografia líquida de alta eficiência – fase reversa
NIR	infravermelho próximo
APT	análise de perfil de textura
Hz	hertz

## RESUMO

As variedades crioulas de milho apresentam ampla variação genética que pode ser utilizada em programas de melhoramento, obtendo assim variedades de milho com qualidade para aplicações no desenvolvimento de alimentos. Além disso, apresentam um grande potencial de adaptação a diferentes condições de cultivo. O cultivo de milho crioulo por pequenos produtores contribui para a recuperação, preservação e produção de variedades, tendo como consequência um aumento ou equilíbrio da variabilidade genética. A escolha de uma variedade de milho deve ser baseada não só nas características agronômicas, mas também nos fatores nutricionais e na qualidade industrial. Neste trabalho, oito amostras de milho crioulo foram avaliadas em sua composição química, fatores de qualidade e aspecto do grão e microestrutura do amido. A quantificação de ácidos graxos foi realizada, e todas as amostras apresentaram um elevado teor de ácido linoléico. Realizou-se uma extração das proteínas do endosperma e estas foram quantificadas. Os valores de proteína e lipídios (base seca) foram de 8 a 10.3% e 4.8 a 5.4%, respectivamente. O amido é o componente majoritário do grão de milho, e seu teor variou de 63 a 73%. O peso molecular das quatro classes de proteínas foi determinado com SDS-PAGE, e uma classificação das classes de acordo com sua valência (carga superficial) por eletroforese capilar foi realizada. Dendogramas de dissimilaridade genética foram construído para a observação das diferenças entre as variedades, levando em consideração o conteúdo protéico. A dureza dos grãos é controlada pela classe de proteínas  $\alpha$ -zeínas, e como visto em SDS-PAGE, todas as amostras apresentaram esta classe. Os fenômenos de gelatinização e retrogradação das farinhas obtidas de grãos inteiros de oito variedades de milho crioulo foram estudados. Estes fatores foram avaliados através da caracterização das propriedades de pasta por RVA e subsequente avaliação da textura dos géis formados. Propriedades dinâmicas foram estudadas através da observação das características reológicas das farinhas, e os módulos de armazenamento ( $G'$ ) e perda ( $G''$ ) de energia foram obtidos. A determinação das propriedades viscoelásticas da farinha permitiu observar que  $G'$  e  $G''$  foram levemente influenciados pela oscilação de frequência, com valores de  $G'$  maiores do que  $G''$  para todas as amostras. Este dado possibilita a classificação do gel como fraco. O estudo das características reológicas das farinhas facilitam a aplicação em processamento de produtos a base de amido.

Palavras-chave: milho crioulo; composição química; proteínas; dureza; amido; propriedades reológicas.



## ABSTRACT

Native landraces of Brazilian maize constitute one of the most valuable resources for the development of corn cultivars with end-use quality. Besides, they have high environmental adaptation potential which makes them desirable for breeding programs. The cultivation of maize landraces by small producers helps in the rescue, preservation, and production of varieties, which in turn maintains corn's genetic variability. The choice of a particular landrace should be based not only on agronomic factors but also on the nutritional and industrial quality factors. For this purpose, eight Brazilian maize landraces were evaluated. Chemical composition, quality factors, superficial kernel appearance and starch granules were determined. Values for protein and lipids (dry basis) were in the range of 8-10,3% and 4,8-5,4%, respectively. Starch is the major component of maize, and ranged between 63 and 73%. The fatty acids composition was evaluated and these landraces showed the linoleic composition higher than the other, as usual to maize. All protein fractions were extracted and quantified. By SDS-PAGE, the molecular weight was obtained, and the superficial net charge was observed by capillary electrophoresis, which showed that albumins, globulins and prolamins, represented by zein I and II are clearly negatively net charge. The hardness of the kernel is controlled by the  $\alpha$ -zein class, and all samples showed the presence of these proteins as seen by SDS-PAGE. The functional and thermal properties of maize flours were studied by RVA, texture analysis and rheology. Genetic clusters were constructed to evaluate the differences in the samples, and a large difference was found between the samples in each protein fraction. Dynamic properties was studied and the storage ( $G'$ ) and loss of energy ( $G''$ ) modulus were obtained, allowing to classified the gels formed as weak gels. The frequency sweep had low interference on these results and for all samples the  $G'$  modulus was higher to  $G''$  modulus. The rheological study makes easy the application of the maize flours in starch-based products.

Key-words: landraces maize; chemical composition; proteins; hardness; starch; rheological properties.

## **CAPÍTULO 1**

### **INTRODUÇÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA - CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DE MILHO -**

## 1. INTRODUÇÃO.

O milho (*Zea mays*) é uma planta originária da América Central e os povos indígenas foram os primeiros a utilizarem este cereal (GOODMAN, 1987). Porém, muitas variedades primitivas de milho se perderam juntamente com a cultura das populações indígenas, extintas durante o processo de colonização. O resgate de variedades ainda preservadas por grupos regionais é vital para o cultivo deste cereal (SOARES, *et al.*, 1998).

Com a intensificação do processo de modernização da agricultura brasileira houve um aumento da produção de grãos (SIQUEIRA *et al.*, 1993). Este processo gerou um elevado grau de dependência dos pequenos produtores rurais para com grandes empresas produtoras de sementes, uma vez que estes precisam garantir a subsistência com uma produção rentável de seus cultivos. Esta dependência abrange também os fertilizantes e agrotóxicos necessários, além de máquinas e equipamentos (COEN, 1999).

Um estudo realizado por Meneguetti *et al.* (2002) com amostras de milho comercial e crioula mostrou que apesar da utilização de escassos recursos e tecnologia existente na propriedade, o uso de variedades crioulas é viável técnica e economicamente. Isto significa que esta tecnologia tem lugar na agricultura, principalmente na familiar e naquela desenvolvida por comunidades indígenas.

Com a utilização de variedades crioulas, os agricultores têm autonomia sobre o controle do processo de produção das sementes e ainda, tem a possibilidade de experimentação com as variedades. Com isso, pode-se afirmar que a importância do milho está relacionada ao aspecto social. Segundo os dados do IBGE, cerca de 59,84% dos estabelecimentos que produzem milho consomem a produção na propriedade (IBGE, 2005).

No Brasil há mais de seis milhões de pequenos produtores, estes são ainda mais penalizados com a introdução de produtos transgênicos no mercado (NODARI e GUERRA, 2000). Além disso, os riscos provocados ao meio ambiente pela criação de

novos genótipos envolvem a erosão da diversidade e a poluição genética (NODARI e GUERRA, 2003).

O conhecimento científico das características do milho crioulo pode beneficiar bancos de germoplasma, servindo para ampliar e resgatar a variabilidade genética, possibilitar uma melhoria para os pequenos produtores e, conseqüentemente, diminuir os impactos ambientais negativos (SIQUEIRA *et al.*, 1993; ARAÚJO e NASS, 2002).

Para uso adequado destas variedades crioulas, na utilização doméstica ou industrial, a compreensão de seus aspectos químicos se torna necessária.

O milho representa, dentre os cereais, o grão de maior aplicabilidade. Sua utilização varia entre produção de grits, cereais matinais, “tortillas”, “snacks”, obtenção de amido e óleo, produtos químicos, rações animais (BULL e CANTARELLA, 1993). A composição química do grão pode influenciar diretamente a sua aplicação em produtos finais de milho e muitas investigações já se dedicaram ao estudo dos parâmetros de qualidade do milho, abrangendo fatores como a composição química e características físicas do grão (ROBUTTI *et al.*, 2000).

O conteúdo protéico é talvez o fator que tenha maior influência sobre a qualidade do grão. A textura é uma das características mais importantes do grão, para o processamento, manuseio e transporte, e este fator é controlado quase que totalmente pela presença das zeínas, proteínas de reserva responsáveis pela dureza dos grãos (DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993).

O grão de milho é representado por aproximadamente 75% de carboidratos, e dentre estes, o amido é o maior componente (LOOKHART, 1991). O amido contribui para aspectos texturais em muitos alimentos e apresenta inúmeras aplicações industriais como estabilizador de sistemas coloidais, agente geleificante, retenção de água ou para adesivos (WANG *et al.*, 2000).

O interesse pela indústria nestas qualidades faz com que estudos acerca das propriedades morfológicas (WANG *et al.*, 2000), reológicas, térmicas e texturais do amido sejam gerados (SOUZA e ANDRADE, 2000; YUN e QUAIL, 1999).

O Brasil é um dos principais produtores de milho, e este cereal, juntamente com o arroz, é o mais consumido pelas populações da América Latina, África e Ásia (FAO, 2005). De acordo com dados do IBGE, em 2004, a safra nacional de cereais

somada as de leguminosas, alcançou um volume de 119,386 milhões de toneladas (IBGE, 2005).

Assumindo que a composição química tem grande influência no uso final dos grãos, tanto no âmbito comercial quanto nutricional, e que as variedades crioulas são fontes de informações genéticas, os objetivos deste trabalho foram:

1. Caracterizar a composição química de oito variedades de milho crioulo, cultivados no extremo oeste do Estado de Santa Catarina, e comparar as diferenças encontradas entre as variedades;
2. Avaliar fatores físicos de qualidade dos grãos;
3. Determinar o perfil protéico do endosperma de cada variedade estudada;
4. Estudar as propriedades reológicas das farinhas integrais obtidas pela moagem de cada variedade;
5. Sugerir finalidades de uso com base nas verificações obtidas durante o estudo.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.**

### **2.1. Histórico.**

Provavelmente, o milho é a mais importante planta comercial com origem nas Américas, há indicações de que sua origem tenha sido no México, América Central ou Sudoeste dos Estados Unidos (FREITAS *et al.*, 2003). É uma das culturas mais antigas do mundo, havendo provas, através de escavações arqueológicas e geológicas, e através de medições por desintegração radioativa, de que é cultivado há pelo menos 5.000 anos na América do Sul, e originado de uma ou mais variedades de teosinte (*Zea mays parviglumis* e *Zea mays mexicana*) (GOODMAN, 1987).

O milho apresenta diversas formas de utilização, variando desde a alimentação animal até a utilização de altas tecnologias para seu processo. Mundialmente, a alimentação animal representa a maior parte do consumo desse cereal, chegando a aproximadamente 70% (FAO,2005). Nos Estados Unidos, aproximadamente 50% da produção anual é destinada para animais, enquanto no Brasil, destina-se entre 60 e 80% da produção ao consumo animal, podendo variar de ano em ano. O uso do milho para alimentação humana é de grande importância, principalmente em regiões de baixa renda, onde a produção de derivados de milho é maior (FAO,2005).

Em 2004, o Brasil colheu mais de 31 milhões de toneladas de milho (IBGE, 2005).

### **2.2. Taxonomia**

O milho (*Zea mays*) é um cereal pertencente à família das gramíneas que possui inflorescência masculina (pendão) e feminina (espiga) (GOODMAN e SMITH, 1987).

Os grãos de milho se desenvolvem após 50 dias da fertilização quando há um aumento significativo de volume (GOODMAN e SMITH, 1987). O grão é um fruto

denominado botanicamente de cariopse, característico das gramíneas, produzidos pela inflorescência feminina (espiga) (WATSON, 1987). A camada externa (pericarpo) é derivada da parede do ovário e pode ser incolor, vermelha, marrom ou laranja (GOODMAN e SMITH, 1987). A coloração de grãos de milho, é controlada pela ação de genes, responsáveis pela formação do pigmento (NEUFFER *et al.*, 1987).

### **2.3. Milho Crioulo**

Dentre os genótipos conhecidos como normal, mutante (*opaco-2*) ou modificado (transgênicos), há também os fenótipos de milho indígena, os quais apresentam grãos opacos de baixa densidade, semelhantes aos mutantes *opaco-2*; porém, com baixa qualidade protéica (SILVA *et al.*, 2000).

A utilização de variedades crioulas, também chamadas locais, possibilita o resgate de produções caseiras, tornando o produtor independente dos pacotes tecnológicos, livres da necessidade da compra anual da semente e da dependência de produtos agroquímicos, como adubos e venenos. As conseqüências deste tipo de cultivo doméstico são, preservação da cultura e das características específicas das variedades, gerando uma valorização da biodiversidade, autonomia dos pequenos produtores com relação ao sistema de produção e recursos locais (CARVALHO, 1990).

### **2.4. Estrutura do grão de milho**

As características físicas básicas do grão dependem da variedade e do tipo do grão, da localidade e fertilidade do solo onde são cultivadas, e das práticas de cultivo e colheita utilizadas (HOSENEY, 1996).

O grão é constituído por endosperma (85%) dos quais 70% é de amido, embrião (10%) e pericarpo (5%) ( WATSON, 1987), como se pode observar na Figura 1.

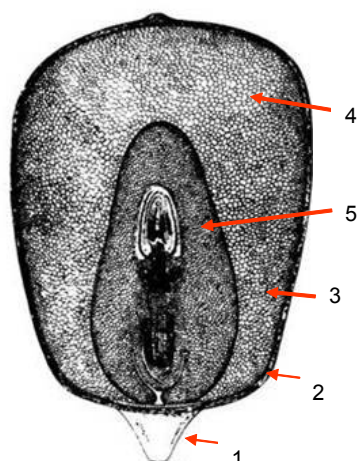


Figura 01 – Estrutura física do grão de milho.

Fonte: Watson (1987).

- 1: Pedúnculo
- 2: Pericarpo
- 3: Endosperma translúcido
- 4: Endosperma opaco
- 5: Gérmen

O pericarpo do milho não é facilmente removível, esta espécie também se caracteriza pelas suas peculiares colorações, que podem variar entre incolor, vermelho púrpuro, azul, dourado, marrom, laranja e amarela, na camada aleurona, ou entre branco, amarelo e laranja no endosperma (WATSON, 1987).

O gérmen constitui 11% do peso do grão de milho. No gérmen é onde se encontram as reservas de nutrientes e hormônios, essenciais para a germinação da planta (LANDRY e MOUREAUX, 1980).

O pericarpo representa de 5 a 6% do peso seco dos grãos de milho, e é composto por tubos longitudinais de celulose, que mantém a hidratação dos grãos. O pericarpo é ainda recoberto pelo mesocarpo, uma camada compacta composta por células alongadas. O mesocarpo, por sua vez, é recoberto pela epiderme, a qual impede as mudanças de umidade dentro do grão (WOLF *et al.*, 1987).

O endosperma constitui 82-84% do peso seco dos grãos e classifica o milho de acordo com sua textura e aspecto segundo Dombrink-Kurtzman e Bietz (1993) :

- 1) Amiláceo, opaco ou farinhoso (“floury”);
- 2) Dentado (“dent”);
- 3) Duro, translúcido ou cristalino (“flint”);
- 4) Pipoca (“popcorn”);
- 5) Doce (“sweet”); e
- 6) Ceroso (“waxy”).



O endosperma do milho tipo amiláceo, de aspecto opaco, é representado por uma estrutura amido muito mole e com a presença de espaços aéreos, resultando em grãos com baixa densidade (DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993). O milho dentado possui endosperma duro nos lados e amiláceo no centro do grão, este tipo de milho é o mais produzido no mundo (DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993). O milho duro apresenta um endosperma vítreo ou cristalino que ocupa quase todo o seu volume, onde os grânulos de amido se encontram fortemente ligados a matriz protéica (DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993), e contém maior teor de amilose (DOMBRINK-KURTZMAN e KNUTSON, 1997). Um endosperma constituído quase que exclusivamente por amido duro, e que tem a propriedade de estourar quando submetido ao aquecimento, caracteriza o milho pipoca (BANDEL, 1987). O milho do tipo doce apresenta grande quantidade de açúcares no endosperma, sendo muito utilizado para consumo humano na forma de milho verde (BANDEL, 1987). E por fim, o milho ceroso apresenta amido com uma razão de amilopectina elevada em relação a amilose, e este tipo de milho tem grande importância para indústrias alimentícias e de adesivos (DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993).

## **2.5. Composição química do milho.**

### **2.5.1. Composição química das partes do grão.**

As principais partes do grão de milho diferem consideravelmente em sua composição química (WATSON, 1987). O pericarpo se caracteriza por um elevado teor de fibras, em média 86,7 (Tabela 1). As quais são quase que exclusivamente hemiceluloses (67%), celulose (23%) e lignina (0,1%) segundo Burge e Duensing (1989). Já o endosperma contém um nível elevado de amido (87,6%), 8% de proteínas e conteúdo de lipídios relativamente baixo (Tabela 1). Por último, o gérmen é caracterizado por seu elevado teor de lipídios (43,2%) e um conteúdo médio de proteínas de 18,4% como descrito por Watson (1987) na Tabela 1.

TABELA 1 – Composição química das principais partes dos grãos de milho (%).

Componente químico	Pericarpo	Endosperma	Gérmen
Proteínas	3,7	8,0	18,4
Extrato etéreo	1,0	0,8	43,2
Fibras totais	86,7	2,7	8,8
Cinzas	0,8	0,3	10,5
Amido	7,3	87,6	8,3
Outros açúcares	0,34	0,62	10,8

Fonte: Watson (1987).

### 2.5.2 Fibra Alimentar

Fibras alimentares são macromoléculas que compõem a estrutura química dos cereais e o seu interesse nutricional é amplo devido as suas propriedades fisiológicas tais como: diminuição de níveis sanguíneos de colesterol em indivíduos hipercolesterolêmicos, auxílio no controle de diabete, e funcionais: capacidade de absorção e retenção de líquidos (ZARAGOZA, 2001).

Decorrente destas propriedades fisiológicas, indústrias alimentícias tem apresentado cada vez mais interesse pelas fibras alimentares. Resíduos industriais, como os obtidos na moagem dos cereais, são normalmente descartados ou utilizados em rações animais. Atualmente, estes produtos estão sendo amplamente utilizados em alimentos com alto teor de fibras: em biscoitos (SILVA *et al.*, 1998) e “snacks” (MIRANDA, 1993; HASHIMOTO, 1996). Mendonça *et al.* (2000) estudaram a introdução de fibras de milho em snacks. Até um certo nível de adição de fibras, as propriedades viscoelásticas dos snacks são mantidas e os produtos são de grande aceitabilidade sensorial.

As fibras são separadas por classes de acordo com a sua solubilidade em solúveis e insolúveis em água (DEVRIES *et al.*, 1999). Fibras solúveis são caracterizadas por formarem géis na presença de água, tornando os alimentos mais viscosos (MANTHEY *et al.*, 1999).  $\beta$ -glucanas e arabinoxilanas compõem esse grupo. Diferente dos cereais aveia e cevada, o milho não contém em sua composição as  $\beta$ -glucanas (DE FRANCISCO, DE SÁ, 2000). Já as fibras insolúveis são representadas

principalmente por ligninas, celulose e hemiceluloses, e apresentam a capacidade de absorver ácidos biliares (PROSKY, 1999; MANTHEY *et al.*, 1999).

As fibras do milho estão localizadas principalmente no pericarpo (Tabela 1). Podem ser encontradas também em menores quantidades nas paredes celulares do endosperma e no gérmen (WATSON, 1987).

A influência das variedades e das condições de cultivo na composição química do milho foram estudadas por Bressani *et al.* (1989). Os autores verificaram que o conteúdo de fibras alimentares é influenciado pelas variedades e pelas condições de cultivo das mesmas (Tabela 2). Beber *et al.* (2002) demonstraram que variedades de aveia cultivadas em diferentes localidades apresentaram variações nos teores de fibras. Outro fator que exerce influência no conteúdo de fibras totais é o processamento do grão (DE SÁ, 2000).

TABELA 2 – Fibras solúvel e insolúvel do cultivar de milho doméstico e do híbrido (%).

Tipo de milho	Fibra alimentar		
	Insolúvel	Solúvel	Total
Localidade 1	10,94 ± 1,26	1,25 ± 0,41	12,19 ± 1,30
Localidade 2	11,15 ± 1,08	1,64 ± 0,73	12,80 ± 1,47
Híbrido	13,77	1,14	14,91

Fonte: Bressani *et al.* (1989).

O conteúdo de fibras insolúveis pode variar de acordo com a variedade. Na Tabela 3 são mostrados o conteúdo de hemiceluloses, lignina e parede celular de cinco amostras (BRESSANI *et al.*, 1989).

TABELA 3 – Conteúdo de fibras alimentares insolúveis em cinco variedades de grãos inteiros de milho (%).

Variedades de milho	Hemicelulose	Lignina	Paredes celulares
1	4,98	0,14	9,1
2	8,05	0,12	10,8
3	6,25	0,13	12,0
4	9,23	0,12	13,1
5	11,44	0,14	14,2

Fonte: Bressani *et al.* (1989).

### 2.5.3. Lipídios

O milho apresenta uma concentração de lipídios de 5%, onde em média 45% encontram-se no gérmen (WATSON, 1987).

Através de um processo de moagem, pode-se extrair o gérmen para produção de óleo, o qual é submetido a um processo de refinamento para uso comercial (GUNSTONE *et al.*, 1986). Além de ser visto como um produto de primeira qualidade pelos consumidores, devido ao seu sabor agradável e levemente adocicado, apresenta uma validade longa, decorrente da estabilidade e resistência a transformações sob condições adversas (HUI, 1996).

O óleo desempenha um papel importante na dieta humana por ser uma fonte concentrada de energia. Dentre as características nutricionais do óleo de milho destacam-se o seu alto conteúdo de tocoferol, representado principalmente pelo  $\gamma$ -tocoferol (400-900 mg/kg) seguido por  $\alpha$ -tocoferol (150 mg/kg),  $\delta$ -tocoferol (40 mg/kg) e por último,  $\beta$ -tocoferol (10 mg/kg) (FARRE e ROBERTS, 1994).

Outra vantagem do consumo de óleo de milho é a sua composição em ácidos graxos insaturados (80%) (HUI, 1996).

#### 2.5.3.1 Ácidos graxos

Os lipídios presentes no milho são compostos principalmente por ácidos graxos poliinsaturados, com 52% de ácido linoléico ( $\omega$ -6), 30,5% de ácido oléico ( $\omega$ -9), e 1% de ácido linolênico ( $\omega$ -3) em média (HUI, 1996). Além disso, apresentam um baixo nível dos ácidos graxos saturados palmítico e esteárico, com conteúdos aproximados de 11 e 2% respectivamente (Tabela 4).

O ácido linoléico é um ácido graxo constituído por 18 átomos de carbono em uma configuração linear e um par de duplas ligações (MEAD *et al.*, 1986).

O consumo do óleo de milho apresenta como vantagem nutricional a presença do ácido  $\omega$ -6 (linoléico), o qual não pode ser sintetizado pelo organismo humano, porém essencial para a saúde (SINCLAIR, 2000). Ainda segundo esse autor,

este ácido graxo auxilia na manutenção da pele, protegendo-a contra infecções, regulando a temperatura do corpo e conseqüentemente, impedindo a perda de água.

O baixo conteúdo de ácido linolênico e o alto nível de antioxidantes presentes no óleo de milho, o tornam um óleo estável (HUI, 1996).

TABELA 4 – Composição em ácidos graxos do óleo do milho.

Ácido graxo	Composição (%)	Ácido graxo	Composição (%)
<14:0	<0.1	18:2	34.0 - 62.0
14:0	<0.1	18:3	<2.0
16:0	8.0 - 19.0	20:0	<1.0
16:1	<0.5	20:1	<0.5
18:0	0.5 - 4.0	22:0	<0.5
18:1	19.0 - 50.0	24:0	<0.5

Fonte: Hui (1996).

#### 2.5.4. Amido.

O amido está presente em todos os vegetais e é utilizado por estes como fonte de energia (HOSENEY, 1996). Segundo Karim *et al.*, 2000 o amido é o maior polissacarídeo de armazenamento em alimentos de origem vegetal, o qual se apresenta naturalmente na forma de pequenos grânulos dentro das células das plantas. As maiores fontes botânicas e comerciais de amidos são os cereais, tubérculos e raízes (KARIM *et al.*, 2000).

O milho é a maior fonte para produção de amido, sendo mais de 95% proveniente deste cereal nos EUA, onde também há a produção de amido de batata e trigo (FAO, 2004). Alguns países da Europa são representativos na produção de amidos alternativos como França, Holanda, Alemanha, Polônia e Suécia (FAO, 2005). No Brasil, a maior fonte de amido é a mandioca que em 2004 obteve uma produção de 23,9 milhões de toneladas de mandioca, cerca de 50% desta colheita foi destinada à produção de amido (IBGE, 2005).

A biossíntese do amido é um processo complexo em que os grânulos de amido são sintetizados nos tecidos internos de diversas plantas, em vacúolos chamados amiloplastos (BULÉON *et al.*, 1998). Variações no tamanho dos grânulos (~1-100 µm em diâmetro), formato (redondo, lenticular, poligonal), diferença em

tamanho (tipo A ou B, mono- ou bi-modal), simples ou composto, e na composição (conteúdo de  $\alpha$ -glucana, lipídios, umidade, proteína e minerais) são resultado de diferentes fontes botânicas (TESTER e KARKALAS, 1996). No milho, o amido tem um tamanho de 20  $\mu$ m e o seu formato varia de poligonal, em endospermas vítreos, a esférico em opacos (HOSENEY, 1996).

Os grânulos de amido são compostos por dois tipos de  $\alpha$ -glucana, formados através de sacarose produzida durante a fotossíntese (BULÉON *et al.*, 1998). Estas duas classes são representadas por amilose e amilopectina, as quais compõem aproximadamente 98-99% do peso seco (RIDOUT *et al.*, 2002). No interior dos grânulos os polissacarídeos são dispostos em anéis concêntricos cuja posição, número de anéis e a razão entre os polissacarídeos variam de acordo com a origem botânica do amido (GALLANT *et al.*, 1997).

A amilose é uma molécula essencialmente linear, constituída por unidades de glicose, e representa cerca de 25-30% do amido (RIDOUT *et al.*, 2002). O polímero amilopectina também é formado por glicose, porém em forma ramificada, compondo 70-75% do grânulo de amido, a amilopectina é uma estrutura naturalmente semicristalina com vários níveis de cristalinidade (RIDOUT *et al.*, 2002). Esta característica é exclusivamente relacionada com seu conteúdo, enquanto que a região amorfa é representada pela amilose e pelas ramificações de amilopectina (ZOBEL, 1988).

Amilose e amilopectina têm diferentes estruturas e propriedades. Amilose é relativamente longa e contém aproximadamente 99% de ligações  $\alpha$ - (1-4) e  $\alpha$ - (1-6) e diferem em tamanho e estrutura dependendo da origem botânica (BULÉON *et al.*, 1998). A amilose tem um peso molecular de aproximadamente  $1 \times 10^5$  a  $1 \times 10^6$  kDa, já a amilopectina é uma estrutura muito maior e com um peso molecular entre  $1 \times 10^7$  e  $1 \times 10^9$  kDa (MUA e JACKSON, 1997).

O conteúdo de amilose presente no grânulo de amido pode influenciar na dureza do endosperma (DOMBRINK-KURTZMAN E KNUTSON, 1997). Esse estudo comparou as diferenças entre o conteúdo de amilose em endospermas duro e mole e concluiu que em endosperma duro, a região amorfa periférica do amido é maior; a compressão ocorrida no endosperma duro resulta num maior conteúdo de amilose. Por

outro lado, os grânulos de amido presentes no endosperma mole, que são submetidos a uma compressão menor, apresenta uma maior proporção de amilopectina.

O milho, juntamente com sorgo, cevada e arroz são os únicos cereais que apresentam mutantes contendo aproximadamente 100% de amilopectina, denominados cerosos (DOMBRINK-KURTZMAN e KNUTSON, 1997). Algumas variedades de milho contém uma razão de amilose maior, e estes são denominados *amilotipos* (HOSENEY, 1996).

A estrutura do amido pode ser observada por microscopia eletrônica de varredura e de transmissão ou de força atômica (RIDOUT *et al.*, 2002), por microscópio a laser (GALLANT *et al.*, 1997) e por raios-X (HAN e HAMAKER, 2002).

Os grânulos de amido apresentam birrefringência quando observados em microscópio óptico sob luz polarizada, o que indica um certo grau de organização molecular, a parte linear das moléculas de amilopectina formam estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por pontes de hidrogênio entre grupamentos hidroxila que dão origem às regiões cristalinas dos grânulos (HOSENEY, 1996).

Os amidos provenientes dos cereais contém lipídios na forma de lisofosfolipídios e ácidos graxos livres (SINGH *et al.*, 2003). Os lisofosfolipídios estão positivamente correlacionados com concentração de amilose e participam em até 2% do peso total do amido, especialmente em grânulos com alta concentração de amilose (MORISSON, 1995). Adicionalmente, os grânulos de amido encontram-se associados a proteínas. Estas proteínas são divididas em proteínas internas e superficiais (GILIAN *et al.*, 1981), e no milho, são compostas por duas classes, as zeínas superficiais, de peso molecular entre 10-27 kDa e removidas facilmente com proteases, e as zeínas internas, resistentes à protease e com peso molecular acima de 32 kDa (MU-FORSTER *et al.*, 1996). Zeínas são proteínas de reserva do milho e são distribuídas uniformemente no endosperma (TOSELLO, 1987; SHUKLA e CHERYAN, 2001).

#### **2.5.4.1. Propriedades térmicas do amido.**

Quando uma solução de amido em água é aquecida acima de uma temperatura crítica, que varia com o tipo de amido e outros fatores, as pontes de

hidrogênio responsáveis pela integridade estrutural do grânulo enfraquecem, permitindo a penetração de água e hidratação dos segmentos lineares da amilopectina (NELLES *et al.*, 2000). Quando isto ocorre, as duplas hélices começam a se dissociar, resultando em pressões tangenciais que levam os grânulos a absorver água e inchar até muitas vezes o seu volume original (TESTER e KARKALAS, 1996). Este fenômeno é conhecido como gelatinização.

A gelatinização do grânulo de amido é um dos fatores que exerce maior influência sobre as propriedades funcionais do amido. Durante a gelatinização ocorre um desarranjo molecular na presença de água, causando um colapso da cristalinidade no interior dos grânulos, manifestando mudanças irreversíveis como inchamento do grânulo, perda da birrefringência, dissociação das duplas hélices, solubilização do amido, e a ruptura das cadeias de amilose no interior do grânulo (TESTER e MORISSON, 1990).

O inchamento é resultante do conteúdo de amilopectina, e a amilose age como um diluente ao conteúdo de amilopectina, inibindo o fenômeno e desfavorecendo a gelatinização (TESTER e MORISSON, 1990). A arquitetura do grânulo (razão entre as regiões cristalina e amorfa) também é um fator que controla o inchamento (TESTER *et al.*, 2004).

O gel pode ser denominado como uma solução coloidal de sólido em líquido, onde a fase sólida forma uma rede a qual imobiliza o líquido, caracterizando com propriedades semi-sólidas (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Géis formando a partir de amido são classificados por Silva e Rao (1999) como biopolímeros desordenados, com a formação de uma cadeia tri-dimensional, onde grânulos de amido inchados se encontram dispersos (MORRIS, 1990).

Entalpia de gelatinização ( $\Delta H_{\text{gel}}$ ) é a média da cristalinização e indica a perda da ordenação molecular dentro do grânulo (TESTER e MORISSON, 1990).

Sob condições de resfriamento, ocorre a formação de duplas hélices e associação das cadeias de amilose (JANE e ROBYT, 1984), enquanto que cadeias de amilopectina se agregam através de processos de cristalinização. A longo prazo, este processo é considerado indesejável, já que desenvolve características texturais desagradáveis em alimentos a base de amido (CHANG *et al.*, 2004). Este fenômeno é



denominado retrogradação e ocorre através desta interação intermolecular (pontes e hidrogênio entre cadeias de amido) que ocorre após o resfriamento do amido gelatinizado (HOOVER, 2001). A retrogradação depende de vários fatores, mas três são os que têm maior influência sobre este fenômeno: (i) razão entre amilose e amilopectina; (ii) temperatura; e (iii) concentração do amido (TESTER *et al.*, 2004). No caso do amido retrogradado, o valor da entalpia dá uma medida quantitativa da transformação da energia que ocorre durante o derretimento da amilopectina recristalinizada assim como a medida precisa da transição de temperatura durante o endoterma (KARIM, *et al.*, 2000).

A entalpia de amidos retrogradados é normalmente 60-80% menor do que a entalpia de amidos gelatinizados e a transição de temperatura é de 10 a 26°C menor (BAKER e RAYAS-DUARTE, 1998).

#### **2.5.4.2. Propriedades reológicas do amido.**

Amidos de fontes variadas diferem significativamente nas propriedades físico-químicas, reológicas, térmicas e de retrogradação. Características funcionais específicas apresentam uma grande demanda na indústria alimentícia, a qual tem gerado o desenvolvimento de inúmeras técnicas de avaliação das propriedades funcionais do amido (SINGH *et al.*, 2003). Variações nas propriedades físicas e químicas, atribuídas as mudanças em produtos a base de amido durante o armazenamento, formam as bases usuais para estes métodos, estas mudanças tempo-dependentes podem vir a contribuir ou correlacionar com percepções sensoriais ou digestibilidade de produtos de amido (KARIM *et al.*, 2000).

As propriedades de pasta do amido, amplamente estudadas, podem ser determinadas através de equipamentos como: visco-amilógrafo Brabender, RVA (rapid visco analyser) e viscosímetros rotacionais (WIESENBERN *et al.*, 1994). Estes podem detectar os processos tanto de inchamento quanto de reintegração do amido (QIAN e KUHN, 1999).

A utilização de RVA para determinar as propriedades de pasta tem sido amplamente estudada (DEFFENBAUGH e WALKER, 1989; KIM e WALKER, 1992)

especialmente por apresentar versatilidade em obter parâmetros desejados (WALKER *et al.*, 1992). Essa técnica apresenta a vantagem de poder trabalhar com pequenas quantidades de amostra em um curto tempo de análise, além de permitir o manuseio das condições para adaptar a diferentes tipos de amostras, e se baseia no conceito que durante o aquecimento os grânulos de amido podem rapidamente absorver água, inchar, desenvolver viscosidade e se romperem durante o aquecimento contínuo, resultando em rápido aumento e diminuição da viscosidade (ALMEIDA-DOMINGUES *et al.*, 1997).

As diferenças nas características físico-químicas da composição do grão de milho são de grande importância (na obtenção de alimentos). Grãos com diferentes tipos de endosperma e diferentes concentrações de sólidos, interferem amplamente nos resultados finais das propriedades de pasta das farinhas (KARIM *et al.*, 2000).

Condições de moagem também afetam significativamente as características de pasta. Amostras com baixa granulometria apresentam viscosidade maior e temperaturas mais baixas, além disso, as características do endosperma também influenciam, sendo que endospermas moles (opaco) desenvolvem uma viscosidade maior, pois a presença de partículas menores, resultante da moagem destes endospermas, favorecem a hidratação, aumentando a gelatinização, o que gera um aumento na viscosidade em temperaturas mais baixas do que aquelas necessárias para formar géis em endospermas duros (translúcidos) (ALMEIDA-DOMINGUES *et al.*, 1997).

Análise de textura instrumental tem sido muito bem adaptada ao estudo da retrogradação do amido em alimentos e modelos de sistemas de géis de amido (JANKOWSKI, 1992). Essa técnica utiliza equipamentos computadorizados, avalia a firmeza do gel, e se baseia no conceito de que quanto mais firme for o gel, maior será a força necessária para comprimi-lo (PONS e FISZMAN, 1996; KARIM *et al.*, 2000). Estes fatores se relacionam com a perda de água resultante da retrogradação.

Análises reológicas são conduzidas em materiais sólidos ou semi-sólidos onde se objetiva determinar mudanças dramáticas no comportamento mecânico (KARIM *et al.*, 2000) e podem definir a relação entre uma tensão aplicada num material

e a sua deformação resultante (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005; YANG *et al.*, 2004).

Testes dinâmicos oscilatórios têm sido empregados para estudar as propriedades viscoelásticas de dispersões de amidos gelatinizados, determinando a relação entre tensão, força e tempo exigido para a deformação (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Determinações reológicas que envolvem a aplicação de grandes forças ou tensões de quebra a suspensões ou géis de amido podem causar danos irreversíveis e tornar o estudo das propriedades viscoelásticas difícil, por tanto, estudos envolvendo pequenas deformações mostram-se mais viáveis pois a força mecânica aplicada não é destrutiva (KARIM *et al.*, 2000).

A resposta a forças aplicadas e deformações nos experimentos reológicos é determinada por dois módulos definidos por: (i) de armazenamento ( $G'$ ); e (ii) de perda ( $G''$ ) (TABILO-MUNIZAGA E BARBOSA-CÁNOVAS, 2005). Módulo de armazenamento ( $G'$ ) é uma medida da energia estocada no material que depende do rearranjo ocorrido entre as moléculas no período oscilatório, através do  $G'$  pode-se definir o caráter do material entre sólido ou elástico (STEFFE, 1996). Módulo de perda ( $G''$ ) é definido pela razão entre tensão e força e é medido pela energia dissipada ou perdida por ciclo, indicando o comportamento líquido ou viscoso (ROSS-MURPHY, 1995).

Uma razão entre energia perdida e armazenada em cada ciclo de deformação nos indica a relativa contribuição das características viscosas e elásticas dos materiais e é representado por  $\tan \delta$  ( $G''/G'$ ) (KHATKAR e SCHOFIELD, 2002). O valor de  $\tan \delta$  sugere, por exemplo, que em suspensões diluídas, o seu índice é alto, devido ao fato de  $G''$  ser uma função de ambos soluto e solvente, enquanto  $G'$  é representativo somente do soluto, o qual neste caso é o componente minoritário (KARIM *et al.*, 2000). Valores de  $\tan \delta = 0$  ou  $= 0^\circ$  são correspondentes a materiais elásticos, enquanto que  $\tan \delta = \infty$  ou  $= 90^\circ$  correspondem a comportamento viscoso, quando os valores estão entre  $0^\circ$  e  $90^\circ$ , o material é então caracterizado como viscoelástico (STEFFE, 1996).

A viscosidade complexa de um material pode ser determinada a partir da equação  $\eta^* = (G^* / \omega)$ , onde  $\omega$  representa a frequência da oscilação (rad/s) e  $G^* = \sqrt{(G')^2 + (G'')^2}$  (SILVA e RAO, 1999).

Existem três formas de caracterizar o comportamento reológico de um material em reômetro: (i) através de uma variação da frequência, com um valor fixado de temperatura; (ii) através de uma variação da temperatura com frequência fixada, e por último, (iii) através de uma variação de tempo, com temperatura e frequência fixadas (SILVA e RAO, 1999). A frequência é provavelmente o modo de experimento oscilatório mais comum por demonstrar com clareza as mudanças nos comportamentos viscoso e elástico dos materiais com a aplicação de força e tensão conhecidas. Materiais submetidos a altas frequências normalmente exibem características de semi-sólidos (STEFFE, 1996).

Três sistemas físicos podem ser utilizados no reômetro: (i) cilindros concêntricos; (ii) pratos paralelos; e (iii) sistema de cone e prato (STEFFE, 1996).

Em determinações das características viscoelásticas com pequena deformação, antes de qualquer experimento ser realizado, as suspensões de amido devem ser submetidas a testes para determinar as condições não destrutivas apropriadas. A região viscoelástica linear (LVR) é definida como o local onde as determinações de força são diretamente proporcionais a tensão aplicada (STEFFE, 1996). Para determinar este valor em modo oscilatório, crescentes níveis cíclicos de força e tensão são aplicados a uma frequência constante. O ponto onde o módulo dinâmico viscoelástico permanece constante em mais de 10% da análise indica a LVR (STEFFE, 1996). A amplitude da força aplicada é normalmente baixa e mantida assim durante todo o experimento para que não exceda a região viscoelástica linear (KARIM et al., 2000).

Durante a análise, o valor de  $G'$  aumenta progressivamente até uma certa temperatura ( $TG'$ ) e depois cai com um aquecimento contínuo. Este aumento pode ser atribuído ao grau de inchamento dos grânulos até preencher o volume do sistema (ELIASON, 1986).

Géis de amido consistem em partículas inchadas dispersas em uma rede tridimensional de cadeias de amilose agregadas. Durante o resfriamento, pontes de hidrogênio são formadas gradualmente, e isso aumenta os valores de  $G'$  (TSAI et al., 1997).

As propriedades reológicas de diferentes tipos de amido variam amplamente de acordo com a estrutura granular (SINGH *et al.*, 2003).

O conteúdo de amilose é um fator de alta influência sobre as propriedades reológicas. Suspensões de amido ricas em amilose apresentam valores de  $G'$  e  $G''$  mais altos (LII *et al.*, 1995; KAUR *et al.*, 2002; SHEWMAKER *et al.*, 1994).

Foi observada a interferência nas propriedades reológicas de amido de milho adicionado de açúcares (xilose, glicose e frutose). Esse estudo observou que, dependendo do tipo e concentração, o açúcar tem influência sobre as propriedades viscoelásticas, causando um aumento da temperatura de gelatinização através da redução do inchamento dos grânulos e ao mesmo tempo, apresenta ação efetiva no impedimento da formação de duplas hélices (retrogradação) em condições de resfriamento do amido. Valores de  $G'$  foram menores em relação ao amido puro, sugerindo que valores de  $G'$  estão associados ao fenômeno da retrogradação, quanto menor seu valor, menor formação de cadeias intermoleculares (CHANG *et al.* 2004).

A presença de alto conteúdo de monoésteres fosfato e a abstenção de lipídios no amido de batata é responsável por altos  $G'$  e  $G''$ , diferindo do amido de milho que apresenta valores de  $G'$  e  $G''$  menores que os do amido de batata. Isso se deve a presença de fosfolipídios e a uma estrutura dos grânulos mais rígida presentes no amido de milho, pois a formação do complexo amilose-lipídio durante a gelatinização diminui os valores de  $G'$  e  $G''$  (SINGH *et al.*, 2002).

A presença de proteínas em dispersões de amido-água enfraquece a estrutura do gel (YANG *et al.*, 2004). Em dispersões de amido-proteína, quanto menor a concentração de proteínas, mais fraco é o gel e menor é o valor de  $G'$ , portanto com o aumento do conteúdo de proteínas o gel torna-se mais firme ( $>G'$ ), ainda que mais fraco do que géis formados a partir de amido e água (MILLER e HOSENEY, 1999). Durante o resfriamento do sistema amido-proteína há um aumento da viscosidade devido à formação de pontes hidrofóbicas pela interação de proteína-proteína (MILLER e HOSENEY, 1999).

Produtos com características de géis viscosos, formados a base de farinha de milho, como por exemplo, pamonha, curau e polenta, formam dispersões de amido-proteína-lipídio. Essa interação pode resultar em enfraquecimento da estrutura

tridimensional formada durante a gelatinização do amido, diminuindo os valores de  $G'$  e  $G''$ , quando comparado a valores de  $G'$  e  $G''$  encontrados para amido puro (SINGH *et al.*, 2002; MILLER e HOSENEY, 1999).

Para realizar a análise em reômetro, existem duas formas de preparo de amostra: (i) géis de amido são preparados separadamente, dimensionados e aplicados no reômetro, ou (ii) os géis são preparados diretamente no reômetro através de uma suspensão de amido colocada sobre o prato, a qual sob aquecimento, sofre a gelatinização. O primeiro método foi descrito nos experimentos realizados por Bejosano e Corke (1999) e por Yuan e Thompson (1998). O segundo método, o de suspensões de amido foi utilizado por Chang *et al.* (2004), Yang *et al.* (2004), Han *et al.* (2002a, b, c) e Miller e Hosenev (1999).

#### **2.5.5. Outros carboidratos presentes no milho.**

O grão maduro de milho contém pequenas quantidades de outros carboidratos além do amido, o total de açúcares em cultivares normais de milho varia entre 1 e 3%, e a sacarose é o elemento mais importante e se encontra essencialmente no gérmen (WATSON, 1987). Grãos em processo de amadurecimento apresentam níveis mais elevados de mono-, di- e trissacarídeos. Após a polinização, o conteúdo de açúcar é bastante elevado, ao contrário do amido. Conforme o grão amadurece, o conteúdo de amido aumenta e os níveis de açúcar praticamente desaparecem (GOODMAN, 1987).

#### **2.5.6. Proteínas.**

Proteínas são compostos orgânicos de alto peso molecular, formados pelo encadeamento de aminoácidos (SGARBIERI, 1996). Em sua composição estão presentes, além do nitrogênio, carbono, hidrogênio e oxigênio, outros compostos químicos como enxofre, fósforo, ferro e cobalto (MAHAN e ARLIN, 1994).

Depois do amido, as proteínas constituem o maior componente químico do grão de milho e este conteúdo protéico pode variar de 6-12% (b.s.), dependendo da

variedade, onde aproximadamente 75% deste conteúdo encontram-se no endosperma e o restante está distribuído entre o gérmen e pericarpo (SHUKLA e CHERYAN, 2001).

No endosperma do grão de milho, as proteínas são responsáveis pela formação de uma matriz, a qual envolve os grânulos de amido presentes (DOMBRINK-KURTZMAN, 1994).

Existem quatro grupos de proteínas no milho, classificadas pelas suas solubilidades (OSBORNE e MENDEL, 1914; LANDRY e MOUREAUX, 1970): (i) albuminas, solúveis em água; (ii) globulinas, solúveis em solução salina (iii) prolaminas, solúveis em álcool; e (iiii) glutelinas solúveis em solução alcali.

As prolaminas são as proteínas de reserva presentes no milho e as demais participam do grupo das proteínas metabolicamente ativas (LOOKHART, 1991).

As proteínas do endosperma são principalmente prolaminas cujo conteúdo de glutelinas se divide entre o endosperma e o gérmen, já as classes albumina e globulina, estão presentes quase em sua maioria no gérmen (SHUKLA e CHERYAN, 2001).

Inúmeros estudos têm se dedicado à separação e caracterização das proteínas. Park e Bean (2003) estudaram os fatores que influenciam na extração de proteínas do sorgo, com base no método de Hamaker *et al.* (1995). Como outros cereais, as proteínas de reserva do sorgo são subdivididas em classes  $\alpha$ ,  $\beta$ , e  $\gamma$  e classificadas de acordo com a sua solubilidade, peso molecular e imunologia (SHULL *et al.*, 1991).

Uma melhor reprodutibilidade de separação das proteínas de reserva é obtida se as proteínas albumina e globulina forem removidas previamente, além disso, a presença de outros componentes como aminoácidos livres, DNA e carboidratos também podem vir a interferir na separação destas proteínas (BEAN e LOOKHART, 1998).

Proteínas extraídas somente do endosperma são normalmente mais estáveis do que aquelas extraídas do grão inteiro (BEAN E TILLEY, 2003).

Durante a moagem do grão inteiro, todas as partes do grão permanecem na farinha e o endosperma se encontra misturado às camadas externas (pericarpo), onde se encontram a maioria das proteínas água-solúveis ou sal-solúveis, assim como

resíduos de parede celular, açúcar e outros componentes (SHUKLA e CHERYAN, 2001).

#### **2.5.6.1. Proteínas de reserva.**

As prolaminas do milho são denominadas zeínas, as quais são amplamente estudadas, principalmente pelo fato de estarem relacionadas com a dureza do endosperma (PAIVA et al., 1991).

As zeínas são distribuídas uniformemente através das células do endosperma entre os grânulos de amido, elas são insolúveis em água, exceto quando em presença de álcool, alta concentração de uréia, alta concentração de álcalis (pH acima de 10) ou detergentes aniônicos (PAIVA et al., 1991). A alta porção de resíduos de aminoácidos não-polares e a deficiência em aminoácidos básicos ou ácidos são responsáveis pelo comportamento na solubilidade das zeínas (SODEK e WILSON, 1971). Estas proteínas são caracterizadas como uma mistura de peptídeos de vários pesos moleculares, solubilidade e carga, ricas em glutamina e aminoácidos hidrofóbicos e pobres em lisina e triptofano (SHUKLA e CHERYAN, 2001;).

Diferentes nomenclaturas têm sido propostas para distinguir os vários tipos de zeínas (LANDRY e MOUREAUX, 1970; PAULIS e WALL, 1975; WILSON, 1991). As zeínas são classificadas como  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$  de acordo com a solubilidade diferencial em solução aquosa de álcool (ESEN, 1987). A  $\alpha$ -zeína, a maior classe, são proteínas com peso molecular de 19 e 22 kDa;  $\beta$ -zeína tem  $M_r$  14 kDa;  $\gamma$ -zeína são representadas por 16 e 27 kDa; e  $\delta$ -zeína tem  $M_r$  19 kDa ( LARKINS *et al.*, 1984).

Um modelo de formação dos corpos protéicos foi proposto Lending e Larkins (1992) baseado em técnicas de imunolocalização usando luz e microscopia eletrônica. Os mesmos observaram que no estágio inicial do desenvolvimento do grão,  $\beta$ -zeína e  $\gamma$ -zeína estão distribuídos através de pequenos corpos protéicos, com pouca ou nenhuma presença de  $\alpha$ -zeína. No estágio final da maturação dos corpos protéicos,  $\alpha$ -zeína preenchem o interior dos corpos protéicos, os quais são envolvidos por uma fina camada de  $\beta$  e  $\gamma$ -zeínas.

A composição e distribuição das proteínas do milho podem influenciar diretamente a textura do endosperma e suas propriedades físicas (SILVA *et al.*, 2000).



A dureza do grão é um importante fator de qualidade. Cultivares de milho com grãos duros são menos susceptíveis a danos durante o plantio, cultivo e colheita (DOMBRINK-KURTZMAN e KNUTSON, 1997). O endosperma de muitos genótipos de milho apresenta concomitantemente frações duras e moles (ROBUTTI *et al.*, 1997). A região de endosperma duro apresenta aproximadamente o dobro de zeínas (em %) do que a região de endosperma mole, porém, a maior diferença está na classe de zeína presente (DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993). Endospermas duros apresentam um conteúdo maior de  $\alpha$ -zeína, e em contraste, endospermas moles apresentam o dobro de  $\gamma$ -zeínas (PAIVA *et al.*, 1991).

#### **2.5.6.2 Separação e caracterização das proteínas**

Diferentes métodos têm sido empregados para a separação e caracterização das proteínas. Dentre os métodos mais utilizados pode-se citar SDS-PAGE (PAIVA *et al.*, 1991), RP-HPLC (ROBUTTI *et al.*, 2000b) e NIR (ROBUTTI *et al.*, 1997).

Eletroforese em gel de poliacrilamida adicionado de detergente dodecil sulfato de sódio (SDS-PAGE), fornece a separação por peso molecular, no entanto, este método é freqüentemente trabalhoso, com alto custo efetivo e não oferece grande reprodutibilidade (BEAN e LOOKHART, 2000).

Muitos métodos cromatográficos permitem a separação, porém a utilização da cromatografia gasosa de alta resolução (HPLC) tornou a cromatografia um método muito prático e poderoso (ROBUTTI *et al.*, 2000b).

Diferente das técnicas cromatográficas são freqüentemente utilizadas em quase todos os laboratórios de alimentos. A eletroforese capilar é relativamente uma novidade em ciência dos alimentos, especialmente pelo seu poder de alta resolução, rápido desenvolvimento de método, fácil preparação de amostra e baixo dispêndio de operação (DONG, 1999). Na eletroforese capilar, um campo elétrico é aplicado a uma solução de moléculas carregadas, fazendo com que estas se movam, de acordo com Bean *et al.* (1998) assim a mobilidade de um íon é dependente de sua razão de carga e tamanho, determinado pelo peso molecular, estrutura tridimensional e grau de

solubilização. Baseado no balanço entre as forças eletromotiva e de atrito, a mobilidade eletroforética ( $\mu_{ep}$ ) pode ser expressa como

$$\mu_{ep} = q / 6\pi\eta r$$

onde,  $q$  = carga superficial,  $\eta$  = viscosidade e  $r$  = raio iônico (BEAN *et al.*, 1998).

O tempo de migração de uma molécula é dependente da mobilidade eletroosmótica da amostra em questão (ROBERTS *et al.*, 1989). Esta mobilidade é influenciada pela temperatura e pH do eletrólito, os quais devem ser mantidos constantes durante todo o experimento.

A migração de uma proteína pode ser quantificada pela média de um tempo de retenção, o qual é o tempo necessário para uma proteína migrar uma distância conhecida do ponto onde a amostra foi aplicada para a posição do capilar o qual é monitorado por um detector e este tempo é então convertido para mobilidade eletroforética (WINZOR *et al.*, 2004). De acordo com McLaughlin *et al.* (1992) a escolha de uma solução tampão adequada é parte fundamental para isso. A solução deve ter uma boa capacidade de tamponamento em um determinado pH. A lavagem (enxágüe) dos capilares utilizando hidróxido de sódio, água, tampão, detergentes, etc, auxilia num condicionamento da superfície interna a um estado padronizado. Através da eletroforese capilar podem-se ainda separar amostras de acordo com suas propriedades hidrofílicas/fóbicas, segundo Cunico *et al.* (1998). Assim, soluto com carga negativa apresentam-se mais hidrofílicos enquanto cargas positivas são características de solutos hidrofóbicos.

Atualmente, a eletroforese capilar tem sido usada para checar adulterações e para explorar a relação de proteína com a qualidade dos alimentos (CHOU *et al.*, 1998).

#### **2.5.6.3. Aminoácidos.**

A composição de aminoácidos varia de acordo com as propriedades das proteínas de cada cereal. O milho tem uma baixa concentração de proteínas, e a qualidade nutricional destas é baixa devido à deficiência dos aminoácidos essenciais

lisina e triptofano além de um excesso de outros aminoácidos, fazendo com que a assimilação das proteínas seja dificultada (CHEFTEL *et al.*, 1989).

O milho compõe a base da alimentação em países pobres, esse hábito alimentar resulta em um baixo consumo de aminoácidos essenciais. Para tentar solucionar essa deficiência muitos pesquisadores se dedicaram a esse fato. Destas pesquisas, chegou-se ao grão *opaco-2*, um mutante do milho com alto nível de lisina (MERTZ *et al.*, 1964). No entanto, devido ao aumento do conteúdo de lisina, houve um decréscimo das proteínas zeína, tendo como consequência o desenvolvimento de um endosperma amiláceo (mole) com alta susceptibilidade ao ataque de insetos e danos mecânicos (ORTEGA e BATES, 1983). Pesquisas foram realizadas para solucionar este problema e o mutante *opaco-2* foi utilizado para desenvolver mutantes com endosperma duros, porém com alto índice de lisina, estes mutantes foram denominados “Quality Protein Maize” (QPM) (MERTZ, 1992; ORTEGA *et al.*, 1991).

## **2.6. Características Físicas.**

As variações nas características físicas gerais do milho são influenciadas pela genética, condições de cultivo, colheita, estocagem e manuseio. Estas etapas devem ser cautelosamente monitoradas para prever e otimizar os processos de moagem e cozimento, os quais influenciam na qualidade dos produtos finais de interesse, como os grits, cereais matinais, “tortillas” e “snacks” (HOSENEY, 1996).

Muitas investigações já se dedicaram ao estudo dos parâmetros de qualidade do milho (PAULSEN e HILL, 1985; POMERANZ *et al.*, 1986; DORSEY-REDDING *et al.*, 1991; ROBUTTI *et al.*, 2000), abrangendo fatores como a composição nutricional (óleo, amido, proteína) e características físicas do grão. Freeman (1973) afirmou que características de qualidade intrínsecas como amido, óleo e proteína podem influenciar diretamente a aplicação final do milho.

Muitas propriedades do milho são altamente dependentes da umidade (DORSEY-REDDING *et al.*, 1991). Para que se tenha armazenamento e manuseio adequado, fatores como densidade do grão, peso específico, peso de 1000 grãos, susceptibilidade de quebra, absorção de água, devem ser conhecidos previamente

(DORSEY-REDDING *et al.*, 1990). Estes mesmos fatores foram ainda relacionados com a dureza dos grãos (POMERANZ *et al.*, 1984; PAULSEN e HILL, 1985).

A densidade do grão pode aumentar ou diminuir de acordo com a perda de umidade, relacionada com a perda de peso e redução de volume e, conseqüentemente o peso de 1000 grãos (DORSEY-REDDING *et al.*, 1990).

Os parâmetros que apresentam maior influência na moagem são: peso específico, conteúdo de umidade e suscetibilidade de quebra. O peso específico pode ser resultante de uma série de fatores como a densidade, forma do grão, características superficiais do grão, conteúdo de umidade, tipo e concentração de impurezas, tamanho, uniformidade do grão e temperatura (FREEMAN, 1973).

O índice de absorção de água determina a performance de umidificação, sendo este o primeiro passo crítico para garantir uma completa separação do gérmen, endosperma, e fibras na moagem úmida (DORSEY-REDDING *et al.*, 1991).

A suscetibilidade de quebra do grão de milho é função de uma tensão interna. Essa tensão interna é encontrada em ambos tipos de endospermas duro e mole, e enfraquecem o grão provocando um dano mecânico (POMERANZ *et al.*, 1984). Suscetibilidade de quebra é uma das mais importantes propriedades físicas determinantes do uso do milho e seu índice é dependente da temperatura e da umidade (KIM *et al.*, 2002).

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- ALMEIDA-DOMINGUEZ, H. D., SUHENDRO, E. L., ROONEY, L. W. Factors affecting rapid visco analyser curves for the determination of maize kernel hardness. **Journal of Cereal Science**, v. 25, p. 93-102, 1997.
- ARAÚJO, P. M., NASS, L. L. Caracterização e avaliação de população de milho crioulo. **Scientia Agrícola**, v. 59, n. 3, p. 589-593, 2002.
- BAKER, L. A.; RAYAS-DUARTE, P. Freeze-thaw stability of amaranth starch and the effects of salt and sugar. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 301-303, 1998.
- BANDEL, G. Genética. In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e Produção do milho**, Fundação Cargill, São Paulo, vol. 1, 1987, p. 111-131.
- BEAN, S. R.; BIETZ, J. A.; LOOKHART, G. L. High-performance capillary electrophoresis of cereal proteins. **Journal of Chromatography A**, v. 814, p. 25-41, 1998.
- BEAN, S. R.; LOOKHART, G. L. Faster capillary electrophoresis separation of wheat proteins through modification to buffer composition and sample handling. **Electrophoresis**, v. 19, p. 3190-3198, 1998.
- BEAN, S. R.; TILLEY, M. Separation of water-soluble proteins from cereals by high-performance capillary electrophoresis. **Cereal Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 505-510, 2003.
- BEBER, R. C.; FRANCISCO, Alicia de ; ALVES, A. C. ; de SÁ, R. M. ; OGLIARI, P. Caracterização química de genótipos brasileiros de aveia (*Avena sativa* L.). **Acta Científica Venezolana**, Caracas, v. 53, n. 3, p. 202-209, 2002.
- BESOJANO, F. P.; CORKE, H. Effect of *Amaranthus* and buckwheat proteins on the rheological properties of maize starch. **Food Chemistry**, v. 65, p. 493-501, 1999.
- BRESSANI, R.; BREUNER, M.; ORTIZ, M. A. Contenido de fibra ácido- y neutrodetergente y de minerales menores en maíz y su tortilla. **Arch. Latinoam. Nutr.**, v. 39, p. 382-391, 1989.
- BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85-112, 1998.
- BULL, L. T., CANTARELLA, H. Cultura do milho – Fatores que afetam a produtividade. Piracicaba, SP, 1993, p. 2-64.
- BURGE, R.M.; DUENSING, W.J. Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran. **Cereal Foods World**, v. 34, p. 535-538, 1989.

CARVALHO, H. M. **A geração de tecnologia agrícola socialmente apropriada**. Rio de Janeiro, AS-PTA, 1990. p.24.

CHANG, Y. H.; LIM, S. T.; YOO, B. Dynamic rheology of corn starch-sugar composites. **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 521-527, 2004.

CHEFTEL, J. C.; CUQ, J. L.; LORIENT, D. **Proteínas alimentarias**. Zaragoza: Acribia, 1989, 346p.

CHOU, S. -S.; SU, S. -C.; SHIAU, H.-W.; HWANG, D. -F.; YU, P. -C.; LEE, S. -C. Protein and amino acid profiles in natural and artificial shark fins using capillary electrophoresis. **Journal of Food Science**, v. 63, p. 782-784, 1998.

COEN, R. **Agricultura para o futuro: uma introdução à agricultura sustentável e de baixo uso de insumos externos**. 2. ed. Rio de Janeiro: AS- PTA, 1999, p. 1-68.

CUNICO, R.; GOODING, K.; WEHR, T. **Basic HPLC and CE biomolecules**. Bay Bioanalytical Laboratory, Inc., Richmond, CA, 1998, 145p.

DE FRANCISCO, A.; DE SÁ, R. M. Beta glucana – Localização, propriedades e utilização. In: CYTED, **Fibra alimentar em Iberoamerica – Projecto XI-6**, ed. Equador: 2000.

DE SÁ, R. M.; DE FRANCISCO, A.; OGLIARI, P. J.; BERTOLDI, F. C. Variação do conteúdo de beta-glucanas em cultivares brasileiros de aveia. **Ciência e tecnologia de Alimentos**, v. 20, n. 1, p. 99-102, 2000.

DEFFENBAUGH, L. B.; WALKER, C. E. Use of the rapid visco analyzer to measure starch pasting properties. **Starch/Stärke**, v. 41, p. 461-467, 1989.

DEVRIES, J. W.; FAUBION, J. M. Defining dietary fiber: a report on the AACC/ILSINA Consensus Workshop. **Cereal Food World**, v. 44, p. 506-507, 1999.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A. and KNUTSON, C. A. A study of maize endosperm hardness in relation to amylose content and susceptibility to damage. **Cereal Chemistry**, v. 74, p. 776-780, 1997.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A. Examination of *opaque* mutants of maize by reversed-phase high-performance liquid chromatography and scanning electron microscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 57-64, 1994.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A.; BIETZ, J. A. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 1, p. 105-108, 1993.

DONG, Y. Capillary electrophoresis in food analysis. **Trends in Food Science & Technology**, v. 10, p. 87-93, 1999.

DORSEY-REDDING, C. HUSBURGH, Jr, C. R., JOHNSON, L. A., FOX, S. R. Adjustment of maize quality data for moisture content. **Cereal Chemistry**, v. 67, n. 3, p. 292-295, 1990.

DORSEY-REDDING, C., HURBURGH Jr, C. R., JOHNSON, L. A., FOX, S. R. Relationship among maize quality factors. **Cereal Chemistry**, v. 68, n. 6, p. 602-605, 1991.

ELIASON, A. C. Viscoelastic behaviour during the gelatinization of starch. I. Comparison of wheat, maize, potato and waxy-barley starches. **Journal of Texture Studies**, v. 17, p. 253-265, 1986.

ESEN, A. A proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (zeins) of maize (*Zea mays* L.). **Journal of Cereal Science**, v. 5, p.117, 1987.

FAO. FAOSTAT Agriculture Data.  
<http://www.fao.org/page/collections?subset=agriculture>. Acesso em fevereiro 2005.

FARRE P. M.; ROBERTS R. J. In: SHILS M. E.; OLSON J. A.; SHIKE M. **Modern Nutrition in health and disease**. Lea & Febiger: New York, 326-339, 1994.

FREEMAN, J. E. Quality factors affecting value of corn for wet milling, **Trans. Am. Soc. Agric. Eng.**, v. 16, n. 4, p. 671, 1973.

FREITAS, F. O.; BENDEL, G.; ALLABY, R. G.; BROWN, T. A. DNA from primitive maize landraces and archaeological remains: implications for the domestication of maize and its expansion into South America. **Journal of Archaeological Science**, v. 30, p. 901-908, 2003.

GALLANT, D. J.; BOUCHET, B.; BALDWIN, P. M. Microscopy of starch: evidence of new level of granule organization. **Carbohydrate Polymers**, v. 32, p. 177-191, 1997.

GATELLIER P.; HAMELIN C.; DURAND Y.; RENERRE M. Effect of a dietary vitamin E supplementation on color stability and lipid oxidation of air and modified atmosphere package beef. **Meat Science**, v. 59, p. 1330-140, 2001.

GILIAN, D. A.; SARGEANT, J. G.; SCHOFIELD, J. D. Wheat starch granule proteins: the isolation and characterization of a salt-extractable protein from starch granules. **Journal of the Science of Food and Agricultural**, v. 32, p. 371-377, 1981.

GOODMAN, M. História e origem do milho. In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e Produção do milho**, Fundação Cargill, São Paulo, vol. 1, 1987, p. 30-65.

GOODMAN, M.; SMITH, J. S. C. Botânica. In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e Produção do milho**, Fundação Cargill, São Paulo, vol. 1, 1987, p. 41-70.

GUNSTONE, F. D.; HARWOOD, J. L.; PADLEY, F. B. **The lipid handbook**. Londres: Chapman and Hall, 1986, 896p.

HAMAKER, B. R.; MOHAMED, A. A.; HABBEN, J. E.; HUANG, C. P.; and LAKINS, B. A. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamins contents than the conventional method. **Cereal Chemistry**, v. 72, p. 583-588, 1995.

HAN, X.-Z.; CAMPANELLA, O. H.; GUAN, H.; KEELING, P. L.; HAMAKER, B. R. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part I. Large deformation measurements of paste properties. **Carbohydrates Polymers**, v. 49, 315-321, 2002a.

HAN, X.-Z.; CAMPANELLA, O. H.; GUAN, H.; KEELING, P. L.; HAMAKER, B. R. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic properties of starch paste. **Carbohydrates Polymers**, v. 49, 323-330, 2002b.

HAN, X.-Z.; CAMPANELLA, O. H.; MIX, N. C.; HAMAKER, B. R. Consequence of starch damage on rheological properties of maize starch pastes. **Cereal Chemistry**, v. 79, n. 6, p. 897-901, 2002c.

HAN, X.-Z.; HAMAKER, B. R. Location of starch granule-associated proteins revealed by confocal laser scanning microscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 35, p. 109-116, 2002.

HASHIMOTO, J. M. **Farelo de mandioca como fonte de fibra em snacks**. Londrina, 1996. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physiochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, 253-267, 2001.

HOSENEY, R. C. **Principles of Cereal Chemistry and Technology**. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN, 1996, 19 p.

HUI, Y. H., ed. – **Bailey's industrial oil and fat products**. 5º ed., New York: Wiley, v. 2 p. 125-158/ v. 3, p. 1-63, 1996.

IBGE – Instituto de Geografia e Estatística. <http://www.ibge.gov.br> Acesso em fevereiro, 2005.

JANE, J. L.; ROBYT, J. F. Structures studies of amylose V complexes and retrograded amylose by action of alpha amylase, a new method for preparing amyloextrins. **Carbohydrates Research**, v. 132, p. 105-110, 1984.



JANKOWSKI, T. Influence of starch retrogradation on the texture of cooked potato tuber. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 27, p. 637-642, 1992

KARIM, A. A.; NORZIAH, M. N.; SEOW, C. C.; Methods for the study of starch retrogradation, **Food Chemistry**, v. 71, p. 9-36, 2000.

KAUR, L.; SINGH, N.; SODHI, N. S. Some properties of potatoes and their starches. II. Morphological, thermal and rheological properties of starches. **Food Chemistry**, v.79, p. 183-192, 2002.

KHATKAR, S. B.; SCHOFIELD, D. J. Dynamic rheology of wheat flour dough. I. Non-linear viscoelastic behaviour. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 82, p. 827-829, 2002.

KIM, C. S.; WALKER, C. E. Changes in starch pasting properties due to sugars emulsifiers as determined by viscosity measurements. **Journal of Food Science**, v. 57, p. 1009-1013, 1992.

KIM, T. H., OPARA, L. U., HAMPTON, J. G., HARDCARE, A. K., MACKAY, B. R. The effects of grain temperature on breakage susceptibility in maize. **Biosystem Engineering**, v. 82, n. 4, p. 415-421, 2002.

LANDRY, J., AND MOUREAUX, T. Heterogeneite des glutelins du grain de maïs: Extraction selective et composition en acides amines des trois fractions isolees. **Bull. Soc. Chim. Biol.**, v. 52, p. 1021-1037, 1970.

LANDRY, J.; MOUREAUX, T. Distribution and amino acid composition of protein groups located in different histological parts of maize grain. **J. Agric. Food Chem.**, v. 28, p. 1186-1191, 1980.

LARKINS, B. A., PEDERSEN, K., MARKS, M. D.; WILSON, D. R. The zein proteins of maize endosperm. **Trends Biochem. Sci.**, v. 9, p. 306, 1984.

LENDING, C. R.; LARKINS, B. A. Effect of the floury-2 locus on protein body formation during maize endosperm development. **Protoplasma**, v. 171, n. 3-4, p. 123-133, 1992.

LII, C. Y.; TSAI, M. L.; TSENG, K. H. Effect of amylose content on the rheological property of rice starch. **Cereal Chemistry**, v. 73, p. 415-420, 1995.

LOOKHART, G. L. Cereal protein: composition of their major fractions and methods for identification. In: **Handbook of Cereal Science and Technology**; Lorenz, K. J.; Kulp, K., Eds.; Marcel Dekker: New York, 1991; pp 441-468.

MAHAN, L. K.; ARLIN, M. T. **Krause: alimentos, nutrição e dietoterapia**. São Paulo: Rocca, 1994, p. 57-70.

MANTHEY, F. A.; HARELAND, G. A.; HUSEBY, D. J. Soluble and insoluble dietary fiber content and composition in oat. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 3, p. 417-420, 1999.

McLAUGHLIN, G. M.; NOLAN, J. A.; LINDAHL, J. L.; PALMIERI, R. H.; ANDERSON, K. W.; MORRIS, S. C.; MORRISON, J. A.; BRONZET, T. J. Pharmaceutical drug separations by HPCE: practical guidelines. **Journal of Liquid Chromatography**, v. 1, p. 961-1021, 1992.

MENDONÇA, S.; GROSSMAN, M. V. E.; VERBÉ, R. Corn bran as a fiber source in expanded snacks. **Lebensm.-Wiss. u-Technol.**, v. 33, n. 2, p. 2-8, 2000.

MENEGUETTI, G. A., GIRARDI, J. L. REGINATTO, J. C. Milho crioulo: tecnologia viável e sustentável. **Agroecol. e Desenv. Rur. Sustent.**, Porto Alegre, v. 3, n. 1, p. 12-17, 2002.

MERTZ, E. T. Discovery of high lysine, high tryptophan cereals. In: MERTZ, E. T. **Quality Protein Mayze**. Ed. Am. Soc. Cereal Chem., St. Paul, MN, 1992, p. 1-8.

MERTZ, E. T.; BATES, L. S.; NELSON, O. E. Mutant gene that changes protein composition and increases lysine content of maize endosperm. **Science**, v. 145, p. 279-280, 1964.

MILLER, K. A.; HOSENEY, R. C. Dynamic rheological properties of wheat starch-gluten doughs. **Cereal Chemistry**, v. 76, p. 105-109, 1999.

MIRANDA, M. Z. **Aproveitamento do resíduo da indústria de cerveja ('dresh') para a produção de 'snacks' com fibra**. Londrina, 1993. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Londrina.

MORISSON, W. R. Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. **Cereal Food World**, v. 40, p. 437-446, 1995

MORO, G. L., LOPES, M. A., HABBEN, J. E., HAMAKER, B. R., LARKINS, B. A. Phenotypic effects of *opaque-2* modifier genes in normal maize endosperm. **Cereal Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 94-99, 1995.

MORRIS, V. J. Starch gelation and retrogradation. **Trends in Food Science and Technology**, v. 1, p. 2-6, 1990.

MOURE A.; CRUZ J. M.; FRANCO D.; DOMINGUEZ J. M.; SINEIRO J.; DOMINGUEZ H.; NÚÑEZ M. J.; PARAJO J. C. Natural antioxidants from residual sources, v. 72, , 2001, p. 145-171.

MUA, J. P.; JACKSON, D. S. Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 45, p. 3840-3847, 1997.

- MU-FORSTER, C.; HUANG, R.; POWERS, J. R.; HARRIMAN, R. W.; KNIGHT, M.; SINGLETARY, G. W.; KEELING, P. L.; WASSERMAN, B. P. Physical association of starch biosynthetic enzymes with starch granules of maize endosperm: granule-associated forms of starch synthase I e starch branching enzymes II. **Plant Physiology**, v. 111, p. 821-829, 1996.
- NELLES, E. M.; DEWAR, J.; BASON, M. L.; TAYLOR, J. R. N. Maize biphasic pasting curves. **Journal of Cereal Science**, v. 31, p. 287-294, 2000.
- NEUFFER, M.G.; JONES e M.S. ZUBER The mutants of maize. In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e Produção do milho**, Fundação Cargill, São Paulo, vol. 1, 1987, p. 124-126.
- NODARI, R. O., GUERRA, M. P. Implicações dos transgênicos na sustentabilidade ambiental e agrícola. **História, Ciência, Saúde – Manguinhos**, v. 2, n. 2, p. 481-491, 2000.
- NODARI, R. O., GUERRA, M. P. Plantas transgênicas e seus produtos: impactos, riscos e segurança alimentar (Biossegurança de plantas transgênicas). **Rev. Nutr. Campinas**, v.16, n,1, p. 105-116, 2003.
- ORTEGA, E. I.; BATES, L. S. Biochemical and agronomic studies of two modified hard-endosperm *opaque-2* maize (*Zea mays* L.) populations. **Cereal Chemistry**, v.60, p. 107-111, 1983.
- ORTEGA, E. I.; VILLEGAS, E.; BJARNASON, M.; SHORT, K. Changes in dry matter and protein fractions during kernel development of quality protein maize. **Cereal Chemistry**, v. 68, n. 5, p. 482-486, 1991.
- OSBORNE, T. B.; MENDEL, B. Nutritive properties of proteins of the maize kernel. **J. Biol. Chem.**, v. 18, p. 1-16, 1914.
- PAIVA, E.; KRITZ, A. L.; PEIXOTO, M. J. V. V. D.; WALLACE, J. C.; LARKINS, B. A. Quantitation and distribution of  $\gamma$ -zein in the endosperm of maize kernels. **Cereal Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 276-279, 1991.
- PARK, S-H.; BEAN, S. R. Investigation and optimization of the factors influencing sorghum protein extraction. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 7050-7054, 2003.
- PAULIS, J. W., BIETZ, J. A., and WALL, J. S. Corn protein subunits: Molecular weights determined by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. **J. Agric. Food Chem.** v.23, p. 1970-1975, 1975
- PAULSEN, M. R., and HILL, L. D. Corn quality factors affecting dry milling performance. **Journal of Agricultural Engineering Research**, v. 31, p. 255-263, 1985.

PETERSON D. M. Oat antioxidants. **Journal of Cereal Science**, v. 33, p. 115-129, 2001.

POMERANZ, Y. MARTIN, C. R., TAYLOR, D. D., and LAI, F. S. Corn hardness determination. **Cereal Chemistry**, v. 61, p. 147, 1984.

POMERANZ, Y., HALL, G. E., CZUCHAJOWSKA, Z., MARTÍN, C. R., and LAI, F. S. Test weight, hardness, and breakage susceptibility evaluation dent corn hybrids. **Cereal Chemistry**, v. 63, p. 349, 1986.

PONS, M., FISZMAN, S. M. Instrumental texture profile analysis with particular reference to gelled system. **Journal of Texture Studies**, v. 27, 597-624, 1996.

PROSKY, L. What is fiber? Current Controversies. **Trends in Food Science and Technology**, v. 10, p. 271-275, 1999.

QIAN, J. Y.; KUHN, M. Evaluation on gelatinization of buckwheat starch: a comparative study of Brabender viscoamylography, rapid visco-analysis, and differential scanning calorimetry. **Eur. Food Res. Technol.**, v. 209, p. 277-280, 1999.

RIDOUT, M. J.; GUNNING, A. P.; PARKER, R. H.; MORRIS, V. J. Using AFM to image internal of starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 123-132, 2002.

ROBERTS, G. O.; RHODES, P. H.; SNYDER, R. S. Dispersion effects in capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography**, v. 480, 0. 35-67, 1989.

ROBUTTI J., BORRAS, F., FERRER, M., PERCIBALDI, M., KNUTSON, C. A. Evaluation of quality factors in Argentine maize races. **Cereal Chemistry**, v. 77, n. 1, p. 24-26, 2000a.

ROBUTTI J.; BORRAS, F.; FERRER, M.; BIETZ, J. Grouping and identification of Argentinean maize races by principal component analysis of zein reverse-phase HPLC data. **Cereal Chemistry**, v.77, p. 91-95, 2000b.

ROBUTTI, J. L.; BORRAS, F. S.; EYHERABIDE, G. H. Zein composition of mechanically separated coarse and fine portions of maize kernels. **Cereal Chemistry**, v. 74, . 1, p. 75-78, 1997.

ROSS-MURPHY, S. B. Rheological characterization of gels. **Journal of Texture Studies**, v. 26, p. 391-400, 1995.

SGABIERI, V. C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações, modificações**. São Paulo: Varela, 1996.

SHEWMAKER, C. K.; BOYER, C. D.; WIESENBERN, D. P.; THOMPSON, D. B.; BOERSIG, M. R.; OAKES, J. V.; STALKER, D. M. Expression of *Escherichia coli* glycogen synthase in the tubers of transgenic potatoes (*Solanum tuberosum*) results in a highly branched starch. **Plant Physiology**, v. 104, p. 1159-1166, 1994.

SHUKLA, R.; CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crop and Products**. v. 13, p. 171-192, 2001.

SHULL, J. M.; WATTERSON, J. J.; KIRLEIS, A. W. Proposed nomenclature for the alcohol-soluble proteins (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L. Moench) based on molecular weight, solubility, and structure. **J. Agric. Food Chem.**, v. 39, p. 83-87, 1991.

SILVA, J. A.; RAO, A. M. Rheological behaviour of food gel system. In: RAO, A. M. **Rheology of fluid and semisolid foods principles and applications**. Aspen Publishers, Inc. p. 319-368, 1999.

SILVA, M.R.; SILVA, M.A. P.; CHANG, Y.K. Utilização da farinha de jatobá (*Hymenaea stigonoparca* Mart.) na elaboração de biscoitos tipo cookies e avaliação de aceitação por testes sensoriais afetivos univariados e multivariados. **Ciência Tecnol. Aliment.**, v. 18, n.1, p. 25-34, 1998.

SILVA, R. P.; LOGUERCIO, L. L.; PAIVA, E. Caracterização dos padrões protéicos do endosperma do milho e sua relação com a estrutura física do grão. **Ciência Agrotec.**, v. 24, n. 3, p. 567-575, 2000.

SINCLAIR, R. Good, bad or essential fats: What is the story with Omega-3? **Nutrition and Food Science**, v. 30, p. 178-182, 2000.

SINGH, J.; SINGH, N.; SAXENA, S. K. effect of fatty acids on the rheological properties of corn and potato starch. **Journal of Food Engineering**, v. 52, p. 9-16, 2002.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.

SIQUEIRA, H. M., BARROS, E. V., MIZIARA, F. Milho híbrido versus milho crioulo: opções e perspectivas para os pequenos produtores da mata mineira. **Anais do XXXI Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural. SOBER**. 2-5 agosto de 1993, vol. I, p. 28-41, Ilhéus – BA.

SODEK, L.; WILSON, C. M. Amino acid composition of proteins isolated from normal, opaque-2, and floury-2 corn endosperms by a modified Osbourne procedure. **J. Agric. Food Chem.**, v. 19, p. 1144-1149, 1971.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processos de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2<sup>o</sup> Edition. Freeman Press. East Lansing, MI, USA, 1996, p. 294-348.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 147-156, 2005.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J. Swelling and gelatinization of oat starches. **Cereal Chemistry**, v. 73, p. 271-277, 1996.

TESTER, R. F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch – composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v.39, p. 151-165, 2004.

TESTER, R. F.; MORISSON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches, **Cereal Chemistry**, v. 67, p. 558-563, 1990.

TOSELLO, G. A. Milhos especiais e seu valor nutritivo In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e Produção do milho**, Fundação Cargill, São Paulo, vol. 1, 1987, p. 375-402.

TSAl, M. L.; LI, C. F.; LII, C. Y. Effects of granular structures on the pasting behaviours of starches. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 6, p. 750-757, 1997.

WALKER, C. E.; ROSS, A. S.; WRIGHLEY, C. W. and McMASTER, G. J. Accelerated starch-paste characterization with rapid visco analyzer. **Cereal Food World**. v. 33, p. 491-493, 1992.

WANG, S. H.; MAIA, L. H.; SILVA, L. F. M.; CABRAL, L. C. Estudo das propriedades reológicas e sensoriais após reconstituição dos mingaus desidratados de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.8, n.1, p.68-73, 2000.

WATSON, S. A. Structure and Composition. In: WATSON, S. A. and RAMSTAD, P. E. **Corn, Chemistry and Technology**. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1987, p. 53-78.

WIESENBORN, D. P.; ORR, P. H.; CASPER, H. H.; TACKE, B. K. Potato starch paste behaviour as related to some physical/chemical properties. **Journal of Food Science**, v. 59, p. 644-648, 1994.

WILSON, M. C. Multiple zeins from maize endosperms characterized by reversed-phase high performance liquid chromatography. **Plant Physiology**, v. 95, p. 777, 1991.

WINZOR, D. J. Determination of the net charge (valence) of a protein: a fundamental but elusive parameter. **Analytical Biochemistry**, v. 325, p. 1-20, 2004.

WOLF, M.J., BUZAN, C. L., MacMASTERS, M. M. and RIST, C. E. Structure of the mature corn kernel. II. Microscopic structure of pericarp, seed coat, and hilar layer of dent corn. In: WATSON, S. A. and RAMSTAD, P. E. **Corn, Chemistry and Technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1987, p. 53-78.

YANG, H.; IRUDAYARAJ, J.; OTGONCHIMEG, S.; WALSH, M. Rheological study of starch and dairy ingredient-based food systems. **Food Chemistry**, v. 86, p. 5712-578, 2004.

YUAN, R. C.; THOMPSON, D. B. Rheological and thermal properties of aged starch pastes from three waxy maize genotypes. **Cereal Chemistry**, v. 75, p. 117-123, 1998.

YUN, S.-H.; QUAIL, K. RVA pasting properties of Australian wheat starches. **Starch/Starke**, v.51, p. 274-280, 1999.

ZARAGOZZA, M. L. Z.; PÉREZ, R. M.; NAVARRO, Y. T. G. Propiedades funcionales y metodología para su evaluación en fibra dietética. In: Lajolo, F. M.; SAURA-CALIXTO, F.; PENNA, E. W.; MENEZES, E. W. **Fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y salud – Obtención, caracterización, efecto fisiológico y aplicación en alimentos**. Ed. São Paulo, SP: Varela, 2001. p. 196-209.

ZOBEL, H. F.; YOUNG, S. N.; ROCCA, L. A. Starch gelatinization. **Cereal Chemistry**, v. 66, p. 443-446, 1988.

ZUBER, M. S. and DARRAH, L. L. Breeding, genetic, and seed corn production. In: WATSON, S. A. and RAMSTAD, P. E. **Corn, Chemistry and Technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1987, p. 31-47.

## **CAPÍTULO 2**

### **MILHO CRIOULO (*Zea mays*) - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA, QUANTIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS E APARÊNCIA DOS GRÃOS.**



## RESUMO

As características físicas são dados importantes de qualidade dos grãos, podendo definir fatores como manuseio e armazenamento. Neste trabalho, oito variedades de milho crioulo foram avaliadas em sua composição química, peso específico e peso de mil grãos, tipo de endosperma e microestrutura. Os conteúdos de proteína e lipídio (base seca) variaram de 8 a 10.3% e 4.8 a 5.4%, respectivamente. O amido, componente majoritário do milho, variou de 63 a 73%. As variedades crioulas de milho apresentaram diferenças significativas entre pelo menos dois parâmetros químicos avaliados de acordo com o teste de Tukey usando um  $p < 0.05$ . Fatores de qualidade foram estudados. Peso específico mostrou uma correlação significativa com proteína ( $r > 0.9$ ) e lipídios ( $r > 0.6$ ). O peso de mil grãos foi diferente significativamente para as oito variedades de milho estudadas. Nenhuma das variedades crioulas de milho apresentou endosperma exclusivamente farináceo (opaco). O milho é um cereal característico por apresentar um alto conteúdo de ácido linoléico, Os ácidos graxos estiveram entre 43,2 e 50,8 % para as amostras Cunha 01 e Pixurum 05.

Palavras-chave: milho crioulo; composição química; fatores de qualidade; aparência do grão, microscopia eletrônica de varredura; ácidos graxos.

## 1. INTRODUÇÃO

As variedades crioulas de milho apresentam ampla variação genética, e representam uma excelente alternativa de cultivo para a agricultura (CAMOLESI *et al.*, 2002).

O conhecimento das características físico-químicas do milho crioulo propicia informações que ajudam a desenvolver produtos de melhor qualidade, e ainda, a aumentar a viabilidade econômica em ambas áreas, doméstica ou comercial.

A composição química do milho pode variar muito através de manipulações genéticas e de cultivo, tipo de semente e de solo, qualidade de fertilizante e condições climáticas (TOSELLO, 1987; ALMEIDA-DOMINGUEZ *et al.*, 1997).

O amido é o carboidrato mais representativo no milho, constituindo aproximadamente 72% do grão. Açúcares como sacarose, glicose e frutose representam apenas 2 % do grão (WATSON e HERUM, 1986).

O milho tem um conteúdo de proteínas que pode variar de 6-18%. Porém, o valor dos cereais como fonte protéica é discutível, em razão da limitada quantidade e qualidade de aminoácidos, pobre em lisina e triptofano (WATSON, 1987; NEISHEM e LOCKHART, 1998).

Os lipídios presentes neste cereal contêm um alto teor de ácidos graxos poliinsaturados, e são particularmente ricos em ácido linoléico. A quantidade e qualidade dos lipídios presentes no grão são dependentes principalmente do genótipo e das condições de ambientais durante a maturação (FREEMAN, 1973). O conteúdo de amido, lipídios e proteína podem definir diretamente a aplicação do milho em produtos finais, podendo ser direcionado à indústria de óleos, amido, ou farinhas (HURBURGH, 1989).

Além das características químicas, outras propriedades do grão de milho devem ser levadas em consideração para sua aplicabilidade. Para armazenamento e manuseio adequado, fatores como densidade do grão, peso específico, peso de 1000 grãos, susceptibilidade de quebra e absorção de água, devem ser conhecidos previamente (DORSEY-REDDING *et al.*, 1990).

A densidade do grão pode aumentar ou diminuir de acordo com a perda de umidade, relacionada com a perda de peso e redução de volume e, conseqüentemente o peso de 1000 grãos, relativo à razão do tamanho e densidade (DORSEY-REDDING *et al.*, 1990; 1991). O peso específico do grão, juntamente com a composição química, tem significativa influência na moagem do milho (DORSEY-REDDING *et al.*, 1990).

Este trabalho teve como objetivo caracterizar física, estrutura e físico-quimicamente oito variedades de milho crioulo (*Zea mays*) cultivados no Estado de Santa Catarina.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS.**

Amostras de 8 variedades brasileiras de milho crioulo (*Zea mays*) (Rosado, Roxo, Sol da manhã, Cunha 01, MPA 13, Amarelão 2, Pixurum 05 e Pixurum 06), cultivadas no ano de 2003, pelos agricultores da Associação dos Pequenos Agricultores Produtores de Milho Crioulo Orgânico e Derivados (ASSO), na região oeste do Estado de Santa Catarina, foram analisadas.

Após o recebimento, as amostras foram acondicionadas sob refrigeração e os materiais estranhos e as impurezas como pedras, paus e sementes de outras espécies, foram removidas. Cada cultivar foi homogeneizado com a finalidade de se obter amostras uniformes (BRASIL, 1992).

Para obtenção da farinha, os grãos de milho foram triturados em moinho (*Udy Cyclone Sample Mill*) equipado com peneiras acopladas de 0,5mm.

### **2.1 Delineamento experimental.**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com oito tratamentos (oito variedades de milho crioulo) e três repetições para os resultados de análise química (proteínas, lipídios, amido, cinzas, umidade) e física (peso de mil grãos e peso específico). Foram realizadas análises de correlação entre os parâmetros físicos e a composição química das amostras. A variação de constituintes químicos foi realizada através de uma análise de variância (ANOVA), utilizando o programa

STATISTICA versão 6.0 (2001), analisadas ao nível de 5% de probabilidade. Para comparar as médias foi utilizado o teste de Tukey 5%.

## **2.2 Análises Químicas.**

As análises químicas nas farinhas obtidas foram realizadas de acordo com as normas da American Association of Cereal Chemists (AACC, 1990). Foram realizadas análises fibra alimentar total, solúvel e insolúvel (32-07), lipídios (30-10), cinzas (08-01), proteínas (46-12), amido (76-13) e umidade (44-19). Todas as análises foram realizadas em triplicata. Para os métodos de fibra total, solúvel e insolúvel e amido foram empregados os kits da Megazyme (Megazyme International Ireland Limited, Wicklow, Ireland).

### **2.2.1 Ácidos graxos.**

Para a quantificação dos ácidos graxos, foi removido o gérmen de 100g de grãos de milho, e a partir deste, fez-se uma extração a frio do óleo (BLIGH & DYER, 1959). Após a obtenção do óleo, foi realizada a metilação e a quantificação dos ácidos graxos de acordo com os métodos oficiais da AOCS (American Oil Chemists Society) Ce 2-66 (97) e Ce 1f-96 (97), respectivamente. A determinação dos ácidos graxos do gérmen das oito variedades foi realizada por cromatografia gasosa capilar com o cromatógrafo CGS AGILENT 6850 SERIES GC SYSTEM. A coluna capilar utilizada foi DB-23 AGILENT (50% cyanopropyl) – methylposiloxane, com diâmetro interno de 0,25 mm e filme de 0,25 µm. O fluxo da coluna foi mantido em 1,00 mL/min durante a análise, e a velocidade linear foi de 24 cm/seg. As temperaturas do detector e do injetor foram de 280 °C e 250 °C, respectivamente. O forno foi mantido em 110°C nos primeiros 5 minutos, e em uma razão de 5 °C/min a temperatura aumentou para 215 °C, a qual foi mantida até o final da análise por 24 minutos. O gás de arraste utilizado foi gás Hélio o qual foi injetado num volume de 1,0 µL (HELRICH, 1990)

## **2.3 Análises Físicas**

De cada amostra, 250 grãos foram selecionados aleatoriamente e pesados. O peso dos 250 grãos foi multiplicado por 4 para determinar o peso dos 1000

grãos. Para a obtenção do peso específico, utilizou-se balança Dalle-Mole. Os resultados foram expressos em base seca.

#### **2.4. Microestrutura dos grânulos de amido.**

Primeiramente foi realizado o preparo das amostras através do fracionamento dos grãos, expondo as superfícies do endosperma. Em seguida, os grãos foram acondicionados sobre um aparato de alumínio e recobertos com uma fina camada de ouro, em metalizador, modelo D2 Diode Sputtering System, fabricada pela ISI (International Scientific Instruments). As amostras foram observadas em um microscópio Philips XL 30 com filamento de tungstênio como fonte de elétrons e detector de elétrons secundários foi utilizado para a observação da aparência superficial dos grânulos de amido, através do rastreamento por toda a extensão do grão (AMBONI *et al.*, 1999).

#### **2.5. Análise de endosperma.**

Para a análise de endosperma, foram utilizadas duas placas tipo Polaroid HN 32 de 15 x 15 cm e uma caixa de luz com lâmpada de 60 watts. Os grãos das amostras foram colocados na placa polarizadora e o endosperma foi exposto à luz incidente da lâmpada. Em seguida, foi colocada uma segunda placa sobre os grãos, que foi defasada da primeira placa em 180°, para anular a intensidade da luz transmitida (PAES, 2006). A textura do endosperma foi classificada de acordo com as seguintes características:

- i) vítreo: porcentagem de grãos com mais de  $\frac{3}{4}$  do endosperma vítreo;
- ii) dentado: porcentagem de grãos com não menos que  $\frac{1}{4}$  e não mais que  $\frac{3}{4}$  do endosperma vítreo;
- iii) semidentado: porcentagem de grãos com menos de  $\frac{1}{4}$  do endosperma vítreo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

O conteúdo de proteína das variedades de milho variou entre 8,3% e 11,3% (Tabela 1). Estes resultados foram similares aos obtidos por Robutti *et al.* (2000). Os autores estudaram 12 amostras de milho crioulo cultivado na Argentina e encontraram valores entre 8,8 e 11,9% para proteínas. Os mais elevados valores de proteínas foram encontrados para as variedades Rosado, Roxo e Cunha, enquanto o menor valor foi encontrado na variedade MPA 13 (Tabela 1). Esses resultados indicaram que houveram diferenças entre as variedades para proteína ao nível de 5% de significância.

Em relação aos lipídios, observou-se que as variedades não diferiram significativamente, com exceção entre as variedades Cunha 01 e Roxo, apresentando um teor de lipídios de 5,68% e 4,87%, respectivamente. A maior concentração de lipídeos foi da variedade Cunha 01, e a menor concentração, foi da variedade Roxo.

Quanto ao conteúdo de cinzas presentes nas variedades, observou-se que as variedades Rosado e MPA 13 tiveram o maior conteúdo.

As variedades Roxo e Pixurum 05 apresentaram os menores valores para fibra solúvel, enquanto que as variedades Rosado, MPA 13 e Cunha 01 tiveram os maiores conteúdo deste componente.

Para fibras insolúveis, a variedade Roxo apresentou diferença significativa dentre todas as amostras.

Fibras totais apresentaram diferença significativa entre as amostras Rosado, Roxo, Pixurum 05 e Pixurum 06. O conteúdo de amido encontrado na variedade Roxo foi significativamente diferente daquele encontrado para Rosado, Cunha 01, MPA 13, Pixurum 05 e Pixurum 06.

As variedades MPA 13, Pixurum 05 e Pixurum 06 apresentaram maior conteúdo de amido em relação a variedade Roxo.

TABELA 1– Valores médios da composição química de milho crioulo.

Variedades	Ptn <sup>h</sup>	Lipídio <sup>h</sup>	Cinzas <sup>h</sup>	Fibra Sol. <sup>h</sup>	Fibra Insol. <sup>h</sup>	Fibra Total <sup>h</sup>	Amido <sup>h</sup>
<b>Rosado</b>	11,33e	5,39a,b	1,58e	1,60c	9,83b	11,43c	69,81a,b
<b>Roxo</b>	11,01e	4,87a	1,46d	0,69a	12,21c	12,9d	63,29a
<b>Sol da manhã</b>	9,79c,d	4,94a,b	1,29a,b	1,40 b,c	9,60a,b	10,99b,c	66,64a,b
<b>Cunha 01</b>	11,20e	5,68b	1,43c,d	1,93c	8,72a	10,65a,b,c	71,08a,b
<b>MPA 13</b>	8,35a	4,95a,b	1,62e	1,50c	9,61a,b	11,11b,c	73,59b
<b>Amarelão 2</b>	10,11d	5,39a,b	1,35b,c	0,84a,b	9,76b	10,59a,b,c	68,88a,b
<b>Pixurum 05</b>	9,1b,c	5,03a,b	1,38b,c,d	0,65a	9,19a,b	9,85a	72,31b
<b>Pixurum 06</b>	8,66a,b	5,02a,b	1,24a	0,83a,b	9,20a,b	10,03a,b	73,72b
<b>CV<sup>i</sup>%</b>	2,39	5,24	2,43	17,24	3,46	3,23	4,52

Numa mesma coluna, médias com letras diferentes, apresentam diferença significativa (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ );

<sup>h</sup> g / 100 g de produto, em base seca;

<sup>i</sup> Coeficiente de Variação dos constituintes para todas as amostras.

O peso de 1000-grãos (Tabela 2) é uma função de tamanho de grão e densidade. Todas as amostras analisadas apresentaram diferença significativa ( $p < 0,05$ ) neste parâmetro, com exceção entre as amostras Pixurum 05 e Pixurum 06. Uma análise de correlação foi realizada e os resultados estão mostrados na Tabela 3. O do peso de mil grãos teve uma correlação positiva com o conteúdo de fibras insolúveis, as quais são estruturas complexas de alto peso molecular, o que explica a associação com o peso. Esta característica física agrega valor ao grão, já que influencia diretamente no fator econômico de compra e venda.

O peso específico é um fator importante de qualidade. Quanto menor o peso específico, menos duro será o grão (DORSEY-REDDING *et al.*, 1991). Isso ocorre porque os grânulos de amido apresentam espaços aéreos entre eles. As variações entre endospermas, vítreo ou opaco também atuam sobre este fator físico (DORSEY-REDDING *et al.*, 1990). Das variedades estudadas, não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre as amostras Cunha 01 e Amarelão 02, e também entre MPA 13, Pixurum 05 e Pixurum 06. Peso específico foi associado negativamente com proteína, com -0,90 de coeficiente de correlação; e com lipídios ( $R^2 = -0,60$ ) (Tabela 3).

TABELA 2- Valores médios de fatores físicos de milho crioulo.

Variedades	Peso de mil grãos <sup>h</sup>	Peso específico <sup>h</sup>
<b>Rosado</b>	436,86g	192,84 <sup>a</sup>
<b>Roxo</b>	351,76c	202,43c
<b>Sol da manhã</b>	314,35b	215,15e
<b>Cunha 01</b>	254,79a	196,75b
<b>MPA 13</b>	365,99d	211,79d
<b>Amarelão 2</b>	408,03f	195,89b
<b>Pixurum 05</b>	393,90e	211,65d
<b>Pixurum 06</b>	396,84e	212,05d
<b>CV<sup>i</sup>%</b>	0,85	0,36

Numa mesma coluna, médias com letras diferentes, apresentam diferença significativa (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ )

<sup>h</sup> Calculados em base seca

<sup>i</sup> Coeficiente de Variação dos constituintes para todas as amostras.

TABELA 3- Coeficientes de correlação entre parâmetros físicos e químicos.

	Peso Específico <sup>a</sup>	Peso mil grãos <sup>a</sup>
<b>Proteína<sup>a</sup></b>	-0,90	Ns
<b>Lipídios<sup>a</sup></b>	-0,60	Ns
<b>Cinzas<sup>a</sup></b>	ns	Ns
<b>Amido<sup>a</sup></b>	ns	Ns
<b>Fibras solúveis<sup>a</sup></b>	ns	Ns
<b>Fibras insolúveis<sup>a</sup></b>	ns	0,47
<b>Fibras totais<sup>a</sup></b>	ns	Ns

ns = não significativo

<sup>a</sup> = significância a nível de  $p < 0,05$ .

A Figura 1 mostra os grãos das variedades de milho crioulo utilizados neste estudo. Para determinar o tipo de endosperma visualmente utilizou-se luz polarizada (Fig 2) e a classificação dos grãos está mostrada na Tabela 4. Todas as variedades foram classificadas como semi-dentadas ou dentadas. De acordo com Dombrink-Kurtzman e Bietz (1993), pode-se classificar o milho como dentado quando o grão possuir endosperma translúcido (duro) nos lados e opaco (amiláceo) no centro do grão. Enquanto o milho duro é caracterizado por apresentar um endosperma duro ou cristalino que ocupa quase que todo o seu volume.

Através da observação da aparência superficial do endosperma por microscopia eletrônica de varredura, visualizou-se a ausência de espaços aéreos onde os grânulos de amido mostraram-se poligonais (Figura 3). Uma textura compactada e uma superfície contínua de grânulos de amido fortemente aderidos à matriz protéica



foram vistas. Já no endosperma amiláceo, os espaços aéreos da superfície encontraram-se aleatoriamente distribuídos e os grânulos apresentaram-se mais esféricos. Os resultados obtidos neste trabalho se assemelham aos obtidos por Dombrink-Kurtzman e Knutson (1997). Pode-se observar que, com exceção das amostras Sol da manhã e Pixurum 06, todas mostraram a presença de endospermas opaco e translúcido (Fig. 3).



Figura 1 - Variedades estudadas: 1) Rosado; 2) Roxo; 3) Sol da Manhã; 4) Cunha 01; 5) MPA 13; 6) Amarelão 02; 7) Pixurum 05; 8) Pixurum 06.

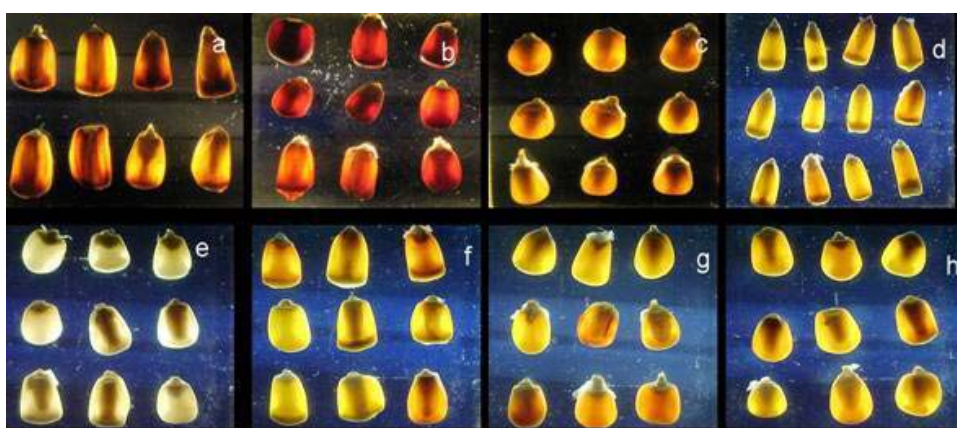


Figura 2 - Aspecto de endosperma sob luz polarizada. a) Rosado; b) Roxo; c) Sol da Manhã; d) Cunha 01; e) MPA 13; f) Amarelão 02; g) Pixurum 05; h) Pixurum 06.

TABELA 4- Classificação de endosperma segundo luz polarizada.

<b>Variedades</b>	<b>Endosperma</b>
<b>Rosado</b>	Semi-Dentado
<b>Roxo</b>	Semi-Dentado
<b>Sol da manhã</b>	Dentado
<b>Cunha 01</b>	Semi-Dentado
<b>MPA 13</b>	Semi-Dentado
<b>Amarelão 2</b>	Semi-Dentado
<b>Pixurum 05</b>	Dentado
<b>Pixurum 06</b>	Dentado

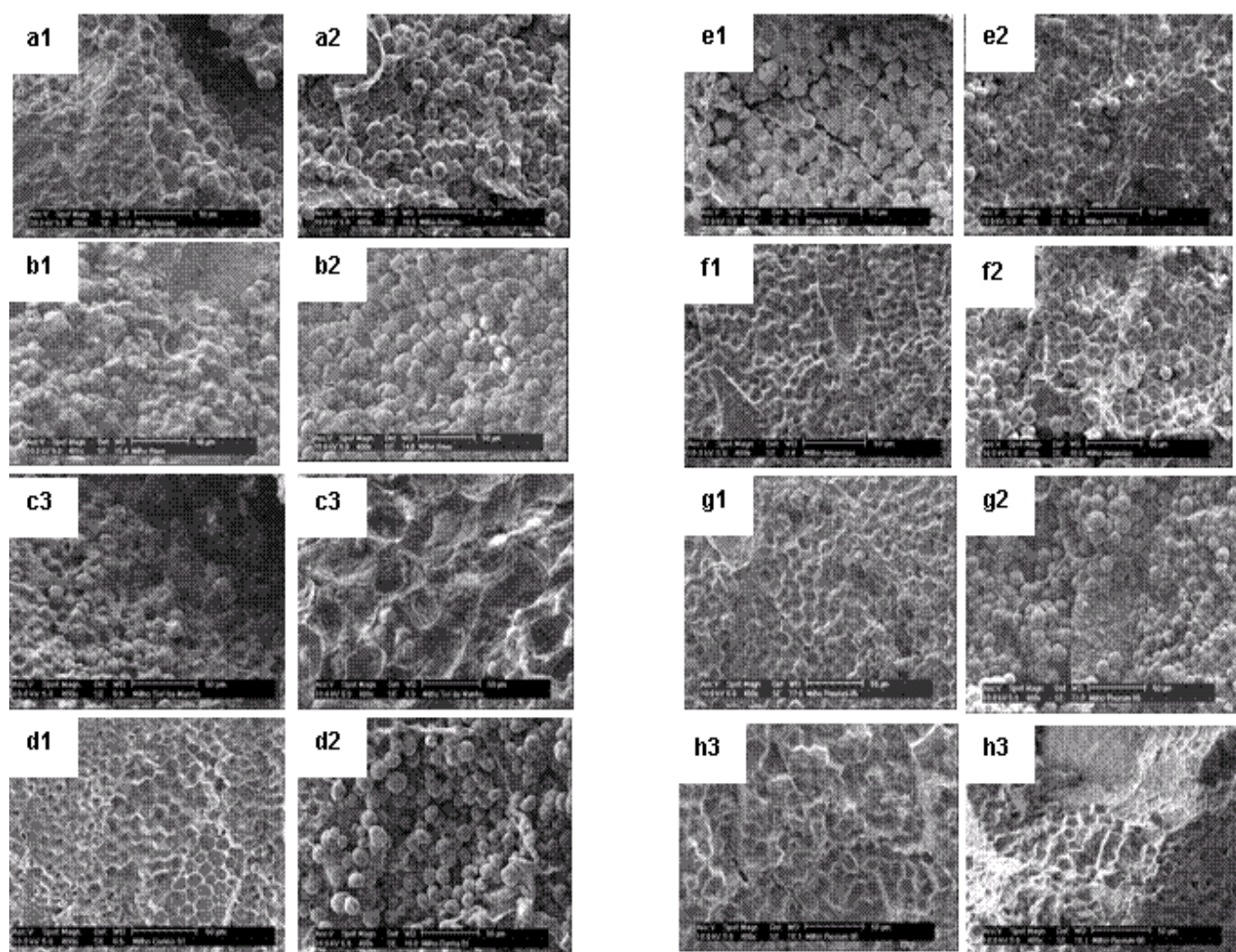


Figura 3 - Microscopia eletrônica de varredura do endosperma dos cultivares de milho crioulo Rosado (a), Roxo (b), Sol da manhã (c), Cunha 01 (d), MPA 13 (e), Amarelão 2 (f), Pixurum 05 (g) Pixurum 06 (h). 1 representa endosperma translúcido, 2 representa endosperma opaco e 3 representa grão com endosperma exclusivo translúcido.

A quantificação dos ácidos graxos das variedades de milho crioulo estudada mostrou que todos os cultivares apresentam índices elevados de ácidos graxos poliinsaturados, em especial de ácidos oléico e linoléico (Tabela 5). Em relação ao ácido oléico, sua composição esteve presente principalmente com a configuração *cis* 9, porém apresentou também traços de *cis* 11. Estes ácidos graxos apresentam a configuração *cis* naturalmente. Além de apresentar um alto teor destes ácidos graxos essenciais, foi observado um baixo conteúdo de ácido linolênico, tornando o óleo proveniente destes cultivares bastante estável (WEBER, 1987). Os valores encontrados estão de acordo com a literatura descrita anteriormente (HUI, 1996).

A presença do ácido graxo linoléico no milho é importante devido ao seu fator nutricional, já que o organismo humano não consegue sintetizá-lo por precursores dietéticos (SINCLAIR, 2000).

TABELA 5– Composição em ácidos graxos (% m/m) das variedades de milho crioulo.

Amostras	Palmitico C16:0	Esteárico C18:0	Oléico C18:1 9c	Oléico C18:1 11c	Linoléico C18:2	Linolênico C18:3	Araquídico C20:0	Gadoléico C20:1
<b>Rosado</b>	13,4	2,2	35,8	0,6	46,2	0,7	0,5	0,3
<b>Roxo</b>	13	2,1	34,7	0,6	47,8	0,8	0,6	0,3
<b>Sol da manhã</b>	14,1	5,9	32,8	0,6	43,9	0,7	ND	1,2
<b>Cunha 01</b>	13,3	2,2	37,7	0,6	44,4	0,7	0,5	0,4
<b>MPA 13</b>	14,9	4	30,9	0,6	47,4	0,8	0,5	0,9
<b>Amarelão 2</b>	12,6	2,3	39,5	0,7	43,2	0,7	0,5	0,3
<b>Pixurum 05</b>	13,1	1,9	31,8	0,6	50,8	1,1	0,5	0,3
<b>Pixurum 06</b>	13,7	2,4	36,5	0,7	44,9	0,8	0,6	0,3

ND = Não detectado

#### 4. CONCLUSÃO.

Resultados mostraram que:

- As variedades Cunha 01, Roxo e Rosado apresentaram os maiores conteúdos de proteínas
- Variedades Roxo e Cunha 01 diferiram quanto ao conteúdo de lipídios, sendo que a variedade Cunha 01 tem maior concentração de lipídios que a variedade Roxo.
- A variedade Roxo apresentou o maior conteúdo de fibras insolúveis.
- A composição de amido esteve maior nas variedades Pixurum 06, Pixurum 05 e MPA 13 quando comparadas a variedade Roxo.
- A correlação negativa de lipídios com peso específico pode ser resultante da baixa densidade característica dos óleos;
- Fibras insolúveis foram correlacionadas positivamente com o peso de mil grãos;
- Através da microscopia eletrônica de varredura da superfície do endosperma dos grãos, pode-se observar os aspectos dos grânulos de amido. Conclui-se que grânulos com estrutura intacta e redonda representam endosperma opaco com estruturas pouco compactadas e espaços aéreos presentes. Grânulos com estruturas poligonais, fortemente aderidos a matriz de proteína, são representativos de endosperma vítreo, duro.
- A composição de ácidos graxos confirmou estudos que afirmam que o milho é rico em ácido linoléico. As variedades ainda se mostraram ricas em ácido oléico.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

AMBONI, R. D. M. C., FRANCISCO, A. F., TEIXEIRA, E. Utilização de microscopia eletrônica de varredura para detecção de fraudes em café torrado e moído. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 19, n. 3, 1999.

HELDRICH, K. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists, **AOAC**, v.2, p. 963, 1990.

PAES, M. C. D. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do grão de milho. **Circular Técnica 75**, 2006, ISSN 1679-1150.

ALMEIDA-DOMINGUEZ, H. D., SUHENDRO, E. L., ROONEY, L. W. Factors affecting rapid visco analyser curves for the determination of maize kernel hardness. **Journal of Cereal Science**, v. 25, p. 93-102, 1997.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9. ed. Saint Paul: AACC, 1990. 1 v. (paginação irregular).

ARAÚJO, P. M., NASS, L. L. Caracterização e avaliação de população de milho crioulo. **Scientia Agrícola**, v. 59, n. 3, p. 589-593, 2002.

BLIGH, E. G. & DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, 37: 911 - 917, 1959.

BRASIL - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E REFORMA AGRÁRIA. **Regras para análise de sementes**. Brasília, 1992, p. 20.

CAMOLESI, M. R., MOREIRA, R. M. P., FERREIRA, J. M., TARDIN, J. M. MENEGUCE, B., MARTINELLI, A. P. **Potencial genético de duas variedades de milho crioulo em sistemas de agricultura familiar**. III Reunião Técnica Catarinense de Milho e Feijão, Florianópolis, 2002.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A., and BIETZ, J. A. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 1, p. 105-108, 1993.

DORSEY-REDDING, C. HUSBURGH, Jr, C. R., JOHNSON, L. A., FOX, S. R. Adjustment of maize quality data for moisture content. **Cereal Chemistry**, v. 67, n. 3, p. 292-295, 1990.

DORSEY-REDDING, C., HURBURGH Jr, C. R., JOHNSON, L. A., FOX, S. R. Relationship among maize quality factors. **Cereal Chemistry**, v. 68, n. 6, p. 602-605, 1991.



FOLCH, J.; ASCOLI, I.; LESS, M.; EATH, J. A.; Le BARON, F. N. Preparation of lipide extracts from brain tissue. **J. Biol. Chem.**, v. 191, p. 883 - 841, 1951.

FREEMAN, J. E. Quality factors affecting value of corn for wet milling, **Trans. Am. Soc. Agric. Eng.**, v. 16, n. 4, p. 671, 1973.

GOODMAN, M., and SMITH, J. S. C. Botânica. In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e Produção do milho**, Fundação Cargill, São Paulo, vol. 1, 1987, p. 41-70.

HUI, Y. H., ed. – **Bailey's industrial oil and fat products**. 5º ed., New York: Wiley, v. 2 p. 125-158/ v. 3, p. 1-63, 1996.

HURBURGH, C. R. Jr. Moisture e composition analysis in the corn e soy bean market. **Cereal Foods World**, v. 33, n. 6, p.503, 1988.

LOVERN, J. A. Some analytical problems in the analysis of fish and fish products. **JAOC**, v. 48, n. 1, p. 60 – 68, 1965.

MAIA, E. L. & RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Avaliação de um método simples e econômico para a metilação de ácidos graxos com lipídios de diversas espécies de peixes. **Rev. Inst. Adolfo Lutz**, v. 53, p. 27-35, 1993.

MENEGUETTI, G. A., GIRARDI, J. L. REGINATTO, J. C. Milho crioulo: tecnologia viável e sustentável. **Agroecol. e Desenv. Rur. Sustent.**, Porto Alegre, v. 3, n. 1, p. 12-17, 2002.

NODARI, R. O., GUERRA, M. P. Implicações dos transgênicos na sustentabilidade ambiental e agrícola. **História, Ciência, Saúde – Manguinhos**, v. 2, n. 2, p. 481-491, 2000.

NODARI, R. O., GUERRA, M. P. Plantas transgênicas e seus produtos: impactos, riscos e segurança alimentar (Biossegurança de plantas transgênicas). **Rev. Nutr. Campinas**, v.16, n,1, p. 105-116, 2003.

PRATT, R. C., PAULIS, J. W., MILLER, K., NELSEN, T., BIETZ, J. A. Association of zein classes with maize kernel hardness. **Cereal Chemistry**, v. 72, n. 2, p. 162-167, 1995.

SINCLAIR, R. Good, bad or essential fats: What is the story with Omega-3? **Nutrition and Food Science**, v. 30, p. 178-182, 2000.

SIQUEIRA, H. M., BARROS, E. V., MIZIARA, F. **Milho híbrido versus milho crioulo: opções e perspectivas para os pequenos produtores da mata mineira**. Anais do XXXI Congresso Brasileiro de Economia e Sociologia Rural. SOBER, agosto de 1993, vol. I, p. 28-41, Ilhéus – BA.

SOARES, A. C., MACHADO, A. T., SILVA, B. M. WEID, J. M. **Milho crioulo – conservação e uso da biodiversidade**. Rio de Janeiro, RJ, 1998, p. 21-27.

TOSELLO, G. A. Milhos especiais e seu valor nutritivo In: PATERNIANI, E., VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e Produção do milho**, Fundação Cargill, São Paulo, vol. 1, 1987, p. 375-402

WATSON, S. A. and HERUM, F. L. Comparison of eight devices for measuring breakage susceptibility of shelled corn. **Cereal Chemistry**, v. 63, p.139, 1986.

## **CAPITULO 3**

**MILHO CRIOULO(*Zea mays*) -**

**CARACTERIZAÇÃO DAS PROTEÍNAS DO ENDOSPERMA**



## RESUMO

O grão de milho possui em média 12% de proteínas, representadas por quatro grupos classificados de acordo com a sua solubilidade em albuminas, globulinas, prolaminas e glutelinas. As prolaminas compõem as proteínas de reserva do grão, enquanto as demais são denominadas metabolicamente ativas. A classe das prolaminas é representada por subclasses de zeína I e II. As proteínas de reserva, zeínas I e II são altamente relacionadas com a dureza do endosperma, e sua contribuição é dependente da composição. As zeínas podem ser subdivididas em  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ . A dureza do grão é relacionada com a presença de  $\alpha$ -zeína, a qual apresenta peso molecular de 19 e 22 kDa. Este trabalho teve como objetivo extrair as proteínas do endosperma de grãos de cultivares de milho crioulo, e quantificá-las; caracterizar as quatro classes de proteínas de acordo com seu peso molecular, utilizando SDS-PAGE, e classificar as classes de acordo com sua valência (carga superficial) por eletroforese capilar. Apesar de o conteúdo de zeínas ter sido baixo para todas as variedades estudadas,  $\alpha$ -zeína esteve presente em todos os cultivares, como observado por eletroforese em gel. Dendogramas de dissimilaridade genética foram construídos para a observação das diferenças entre as variedades, levando em consideração o conteúdo protéico. Os resultados sugerem que um alto índice de dissimilaridade genética pode ser ocasionado devido as diferentes origens dos cultivares. Eletroforese capilar demonstrou que com exceção da fração glutelina, todas as frações mostraram-se carregadas positivamente.

Palavras-chave: milho crioulo; proteínas; peso molecular; SDS-PAGE; carga superficial; eletroforese capilar; dissimilaridade genética.

## 1. INTRODUÇÃO.

O endosperma do milho constitui aproximadamente 85% do peso dos grãos e apresenta um conteúdo protéico variando de 6 a 18% (WATSON, 1987). As proteínas presentes no milho são classificadas em citoplasmáticas (metabolicamente ativas) e de reserva (LOOKHART, 1991), e divididas em quatro grupos de acordo com sua solubilidade: albuminas, globulinas, prolaminas e gluteninas (OSBORNE e MENDEL, 1914).

As prolaminas do milho, proteínas de reserva solúveis em álcool, compreendem 50-70% do conteúdo total do endosperma e são as proteínas mais estudadas, devido a sua correlação com a textura (LOOKHART, 1991).

As albuminas são proteínas solúveis na água e de menor peso molecular que as globulinas, solúveis em solução salina, com peso molecular pouco mais elevado. As glutelinas se solubilizam em solução álcali na presença de um agente redutor (WILSON, 1987).

Estudos realizados acerca da qualidade industrial do milho (POMERANZ *et al.*, 1986; DORSEY-REDDING *et al.*, 1991; DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993; DOMBRINK-KURTZMAN e KNUTSON, 1997; SILVA *et al.*, 2000) apontam a dureza como a mais importante característica física para o processamento. Assim como para a durabilidade durante o transporte e manuseio (PAIVA *et al.*, 1991; DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993; MORO *et al.*, 1997).

O conhecimento do perfil protéico do milho é de grande interesse também em programas de melhoramento como foi, por exemplo, no desenvolvimento do mutante *opaco-2* (DOMBRINK-KURTZMAN, 1994) e do *opaco-modificado* QPM (*Quality Protein Maize*) (GAZIOLA *et al.*, 1999).

Devido à importância e a complexidade das proteínas dos cereais, muitos métodos analíticos foram desenvolvidos para sua determinação.

SDS-PAGE tem sido amplamente utilizado para quantificar as proteínas do milho (HAMAKER *et al.*, 1995, SILVA *et al.*, 2000; LANDRY *et al.*, 2002, 2004).

Atualmente, eletroforese capilar também tem sido aplicada para identificação e discriminação de proteínas de cereais (BEAN e LOOKHART, 2000a; LOOKHART e

BEAN, 1996) como por exemplo do trigo (ZHU e KHAN, 1999; PIERGIOVANNI e VOLPE, 2003), aveia e arroz (LOOKHART e BEAN, 1995b) milho (BEAN *et al.*, 2000, 2001; PARRIS *et al.*, 1997), e sorgo (BEAN *et al.*, 2000, 2001; PARK e BEAN, 2003). Além disso, é possível separar moléculas carregadas eletricamente (LI, 1992) baseando-se na razão massa/carga da amostra e diretamente relacionada com o tempo e velocidade de migração através do capilar (WINZOR *et al.*, 2004). Dessa forma, há a separação de cátions e ânions na mesma corrida.

O estudo das variedades crioulas utilizadas neste trabalho e o conhecimento da qualidade protéica, das mesmas, pode contribuir para programas de melhoramento, assim como para aplicações domésticas ou industriais. Para tanto, os objetivos deste foram: a) extrair as proteínas presentes no endosperma; b) caracterizar o perfil protéico e ainda, c) separar as frações através da determinação da valência (carga superficial) das oito amostras de milho crioulo (*Zea mays*).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS.**

### **2.1. Extração das Frações Protéicas.**

A extração das proteínas foi realizada de acordo com o método de Landry *et al.* (2000), com algumas modificações. Utilizou-se 250 mg de farinha de grãos de milho degerminados. Todas as extrações foram realizadas em tubos *Eppendorf* com agitações ocasionais, com um tempo padronizado de uma hora para cada fração e utilizando o precipitado da extração anterior como matéria para a seguinte extração. Todas as centrifugações foram realizadas em uma centrífuga *Eppendorf* a 12000 g durante 5 minutos após cada período de extração. A fração de globulina foi extraída em NaCl 0.5 M a 4°C. Para a fração albumina, utilizou-se água nanopura (4°C).

Na extração da fração prolamina, subdividida em zeína I e II, utilizou-se solução 55% 2-propanol (v/v) adicionada de 0.6% de 2-mercaptoetanol (v/v), e solução de NaCl 0.5 M, pH 10 adicionada de 0.6% de 2-mercaptoetanol (v/v), respectivamente. Glutelinas foram extraídas com solução de SDS 0.5% (p/v), pH 10 contendo 0.6% (v/v)

de 2-mercaptoetanol. A extração das prolaminas e glutelinas foi realizada em temperatura ambiente.

## **2.2. Eletroforese em Gel de Poliacrilamida Desnaturante (SDS-PAGE).**

Após todas as extrações, a concentração de proteínas foram determinadas de acordo com Bradford (1976) usando como padrão o kit Invitrogen (BenchMark™ Protein Ladder) contendo 15 proteínas com pesos moleculares de 10 a 220kDa, dentre os quais os pesos de 20 e 50 kDa, foram ressaltados.

Géis de SDS-PAGE contendo 10% de poliacrilamida (Bio-Rad) foram usados para estimar a distribuição do peso molecular das frações protéicas. As amostras foram aplicadas aos géis em solução tampão (25mM Tris, 192 mM glicina, pH 8,3) (LAEMMLI, 1970). A eletroforese foi realizada em um sistema descontínuo, constituído por 2 géis, sendo um de resolução (principal) e outro de empacotamento (stacking gel) e conduzida em sistema vertical. As placas contendo os géis foram submetidas à corrente constante de 10 mA/placa, por cerca de 6 horas a uma temperatura média de 8°C.

Após a eletroforese, os géis foram corados em solução de nitrato de prata e revelados em solução a 2.5% de carbonato de sódio de 25µL de formaldeído.

Os géis foram fotodocumentados e as imagens obtidas analisadas com o software Kodak Digital Science 1D (Anexo 1).

## **2.3. Dissimilaridade Genética.**

Uma matriz de dados binários foi construída com base nos padrões de bandas de proteínas de reserva. Atribuiu-se valor 1 para a presença de banda no cultivar, e 0 (zero) para ausência (Anexo 2).

Estes dados foram analisados utilizando o coeficiente de coincidência simples (*simple matching*) ( $S_{SM}$ ) (SNEATH e SOKAL, 1973), através do programa NTSYS (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis):

$$S_{SM} = \frac{a + b}{a + b + c + d}$$

Onde, a, b, c e d equivalem ao número de ocorrências de cada uma das situações demonstradas no quadro a seguir:

<b>Banda/Variedade</b>	<b>1</b>	<b>2</b>
I	1	1 (a)
II	1	0 (b)
III	0	1 (c)
IV	0	0 (d)

O método de UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic Averages) (ROHLF, 1988), agrupou as variedades (cultivares) (Anexo 3).

Dendogramas de dissimilaridade foram construídos utilizando o programa STATISTICA versão 6.0 (2001).

## 2.4. Liofilização.

Esta etapa foi realizada com todas as frações protéicas extraídas pelos mesmos procedimentos descritos anteriormente (item 2.1), a fim de manter as amostras com todas as propriedades originais intactas.

Segundo Bean e Tilley (2003), a preparação adequada para análise das proteínas água- e sal-solúveis é liofilizar as frações após a extração e então resuspendê-las no momento da análise. Desse modo, estas frações, geralmente metabólicas, mantêm-se inativas.

Todas as frações obtidas foram congeladas a -80°C.

Os tubos *Eppendorf* contendo as frações congeladas foram acondicionados em uma câmara de autoclave e após hermeticamente fechada, submetidos a uma

pressão negativa (vácuo) de 0,1mm de mercúrio e a temperatura de -60 °C durante 24 horas.

## **2.5. Eletroforese Capilar de Zona Livre.**

A determinação da carga superficial das frações de albumina, globulina, prolamina (zeína I e II) e glutelina de cada amostra foi realizada em instrumento *Beckman P/ACE 2000* (San Ramos, CA), utilizando capilar de sílica fundida de 50 µm de diâmetro interno x 27 cm de comprimento (Polymicro Technologies, AZ).

Os capilares foram rinsados por 1 minuto a uma pressão de 20 psi com NaOH 0.1N, seguido por ácido acético 500 mM e finalmente, por água nano-pura.

Uma solução tampão {fosfato 100 mM (pH 2.5), ACN 20% (v/v), glicina 0.4% (v/v) e HMPC 0.05% (p/v)} foi utilizada pra saturar a coluna.

A voltagem usada durante a separação foi de 15 kv, aplicada depois de 5 segundos da injeção da amostra.

As frações da amostras liofilizadas foram resuspensas em 500µL de N-propanol 50% contendo 1% de DTT, e foram injetadas com pressão (0.5 psi) por 5 segundos.

Todas as separações foram monitoradas a 214 nm.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

#### 3.1. Fracionamento do conteúdo protéico do endosperma.

A fração globulina foi a mais representativa em relação as demais frações protéicas variou de 26,5% (Pixurum 06) a 38,2% (Amarelão 02) (Tabela 01).

A fração prolamina representada pelas classes zeína I e II juntas, apresentou valores de 25,2 (MPA 13) a 33,2% (Pixurum 06). Os resultados não estão de acordo com a classificação descrita por LOOKHART (1991), que descreve a classe das prolaminas como a mais abundante no milho.

As frações albumina e glutelina variaram de 11,9 (Rosado) a 16,9% (Amarelão) e de 21,2 (Roxo) a 25,2% (Pixurum 06), respectivamente.

TABELA 1 – Concentração das frações extraídas de oito variedades de milho crioulo.

Variedade	Albumina	Globulina	Prolamina			Glutelina
			Zeína I	Zeína II	Total	
Rosado	11,9	35,8	18,5	9,4	27,9	24,3
Roxo	14,1	35,0	18,1	11,6	29,7	21,2
Sol da manhã	15,2	32,1	19,9	10,6	30,5	22,2
Cunha 01	17,2	31,4	17,1	11,8	28,9	22,5
MPA 13	16,2	34,5	16,5	8,7	25,2	24,2
Amarelão 2	16,9	38,2	14,7	8,5	27,9	21,7
Pixurum 05	14,9	34,2	18,3	11,1	29,7	21,5
Pixurum 06	15,1	26,5	21,9	11,3	33,2	25,2

#### 3.2. Distribuição de Peso Molecular.

A distribuição de peso molecular das frações protéicas em SDS-PAGE é mostrada na Figura 1. Foram observadas 14 bandas na fração albumina, variando de 13 a 60 kDa. Todas as variedades, com exceção da variedade Cunha 01, apresentaram a banda de peso molecular 13 kDa. Por sua vez, a banda 33-34 kDa ocorreu em todas as variedades. Todas as amostras apresentaram entre 5 e 7 bandas, variando em peso

molecular. Visualmente, todas apresentaram bandas com pesos moleculares similares. A variedade Rosado apresentou polipeptídios com peso molecular variando entre 13 e 59kDa, o que ocorreu também com a Pixurum 05, diferindo-se apenas em relação à banda referente aos pesos 29, 49 e 59 kDa, presentes na variedade Pixurum 05, e 41 kDa presente na Rosado somente. As duas amostras apresentaram as bandas 13, 26, 34, 51 e 59 kDa.

A fração globulina apresentou o maior número de bandas, comparado com as demais frações. No total foram 25 bandas, com uma razão variando dentro de 10 kDa a 56-57 kDa. As principais bandas observadas foram as de peso molecular 18, 33 37, 40 e 56-57 kDa, presentes em todas as variedades. Somente as variedades Roxo e Amarelão 02 apresentaram bandas com peso molecular de 10 kDa. As bandas de peso molecular 23 e 52 kDa somente foram observadas na variedade Cunha 01. Com exceção da variedade Rosado, todas apresentaram a banda relativa a 17 kDa, e a banda 29 kDa esteve presente em todas as variedades, exceto na Sol da manhã.

Observou-se na fração glutelina a presença de 10 bandas. Destas, a banda referente ao peso molecular de 48 kDa esteve presente somente nas variedades Rosado e Roxo. As restantes bandas foram representadas pelos seguintes pesos moleculares: 19, 23, 28, 32, 37-38, 44, 52, 61-63, 83 kDa, e estiveram presentes em todos os cultivares.

A fração zeína I apresentou 6 bandas. Dentre elas, a banda de peso molecular de 42 kDa esteve presente somente nas variedades Rosado, MPA 13, Amarelão 02, Pixurum 05 e Pixurum 06. As demais foram apresentadas em todas as variedades, e referiram-se aos pesos: 11, 17, 22, 30-31, 55-56 kDa.

De acordo com Larkins *et al.* (1984) proteínas com pesos moleculares referentes a 19 kDa e 22 kDa na fração prolamina, representam a  $\alpha$ -zeína, as quais estão presentes no grão no estágio final de maturação, envolvidas numa fina camada de  $\beta$ - (14 kDa) e  $\gamma$ -zeínas (16 e 27 kDa) e são as principais responsáveis pela dureza do endosperma (LENDING e LARKINS, 1992; DOMBRINK-KURTZMAN e BIETZ, 1993).

A segunda fração das prolaminas, zeína II, apresentou 8 bandas. A banda de peso 52 kDa foi apresentada somente pela variedade Cunha 01. As variedades Roxo e



Pixurum 06 foram as únicas a apresentarem a banda de 57 kDa. E as variedades Rosado e Amarelão 02 não apresentaram polipeptídios de peso molecular 82-84 kDa, diferentes das demais. Todas as variedades apresentaram as bandas 12, 16, 19, 30-31 kDa. A fração 16 kDa ( $\gamma$ -zeínas) esta associada a dureza de todas as variedades deste estudo (Rosado, Roxo, Sol da Manhã, Cunha 01, MPA 13, Amarelão, Pixurum 05, Pixurum 06), o que se deve ao grau de maturação de todas as variedades.

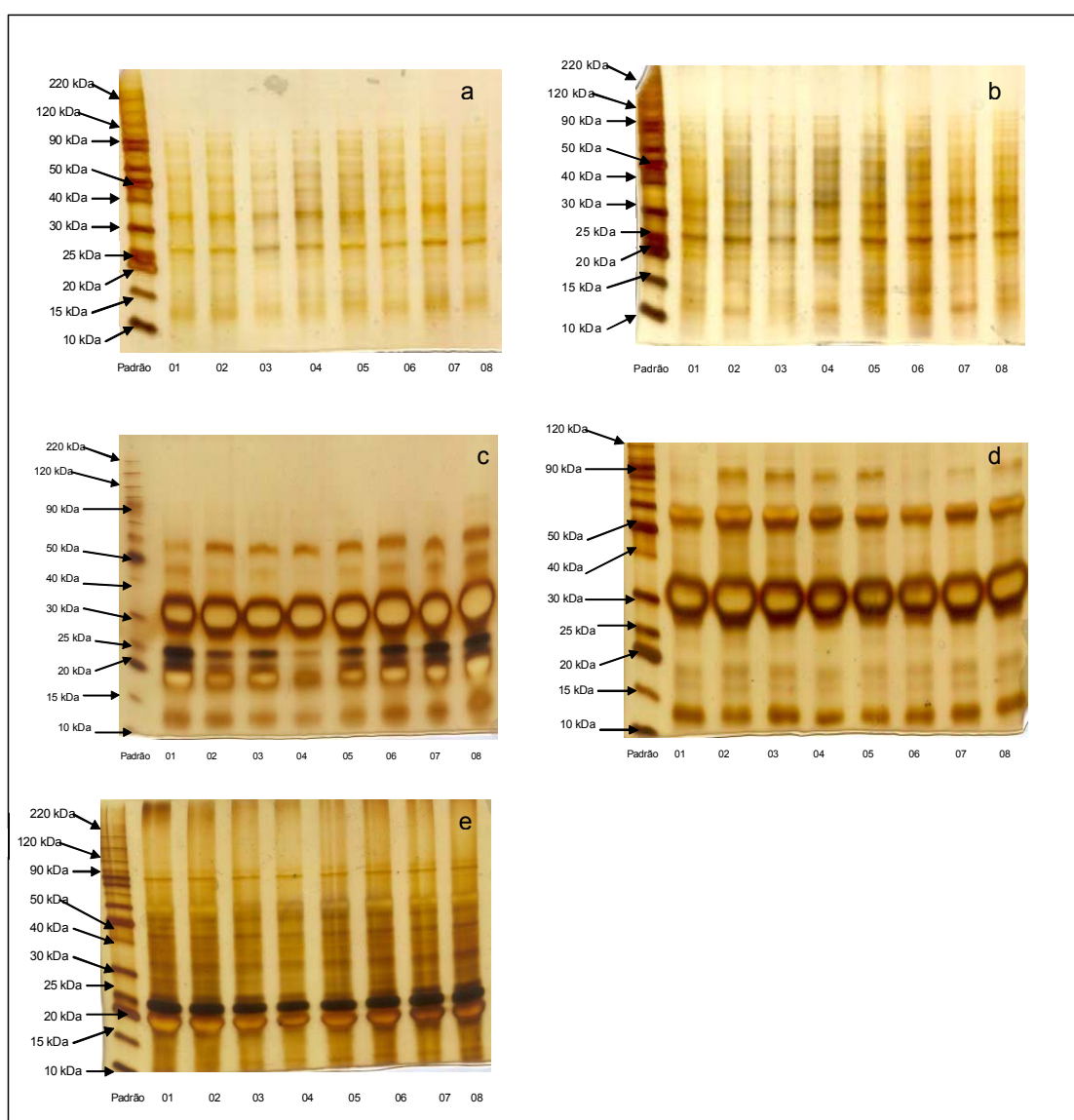


Figura 1 – SDS-PAGE das frações protéicas das oito variedades de milho crioulo: 1) Rosado, 2) Roxo, 3) Sol da manhã, 4) Cunha 01, 5) MPA 13, 6) Amarelão 02, 7) Pixurum 05, 8) Pixurum 06. a) Albuminas; b) Globulinas; c) Zeína I; d) Zeína II; e) Glutelinas. Os padrões de pesos moleculares (kDa) estão indicados nos géis.

### 3.3. Dissimilaridade Genética

Dendogramas foram construídos com o intuito de avaliar a dissimilaridade genética entre as frações protéicas das oito variedades estudadas. Estes gráficos sugerem o nível de diferença genética existente entre as variedades, separadas por frações protéicas, classificando e caracterizando cultivares. A diferença entre as variedades é diretamente proporcional à distância genética, ou seja, quanto maior o índice de dissimilaridade, maior será a distância genética entre as variedades (FUNGARO e VIEIRA, 2001).

Em relação à fração albumina (a), a variedade Amarelão 02 apresentou o maior índice de dissimilaridade, diferindo-se das demais em 91% (Figura 2). As variedades Cunha 01, MPA 13 e Pixurum 06 tiveram um índice de dissimilaridade de 70%, o menor desta fração. Deste grupo, a variedade Pixurum 05 diferiu em 80%. A variedade Rosado mostrou-se dissimilar em 85% das variedades Cunha 01, MPA 13, Pixurum 06 e Pixurum 05.

Na fração globulina (b) houve a formação de dois grupos, tomando-se o nível de 83%. O primeiro grupo foi formado pelas variedades Rosado, Pixurum 05, Sol da manhã, Roxo, Amarelão 02 e Cunha 01. O segundo grupo foi constituído pelos cultivares MPA 13 e Pixurum 06. Estes grupos apresentaram um índice de dissimilaridades entre eles de 85%.

Nas frações zeína I e II as variedades Rosado, Roxo, Sol da manhã, Cunha 01, MPA 13, Amarelão 02 e Pixurum 05 diferiram em 90% da Pixurum 06. Na fração zeína I, a variedade Roxo agrupou-se com a variedade Pixurum 05, com um índice de dissimilaridade de 50%, formando um grupo com aproximadamente 75% de diferença com a variedade Rosado. Já na fração zeína II, a variedade Roxo mostrou-se agrupada diretamente com a variedade Rosado, em aproximadamente 83% de dissimilaridade, assim como as variedades Sol da Manhã e Amarelão 02. Na fração glutelina uma dissimilaridade foi encontrada pela variedade Pixurum 06 com as demais. O índice de dissimilaridade foi de aproximadamente 97%.

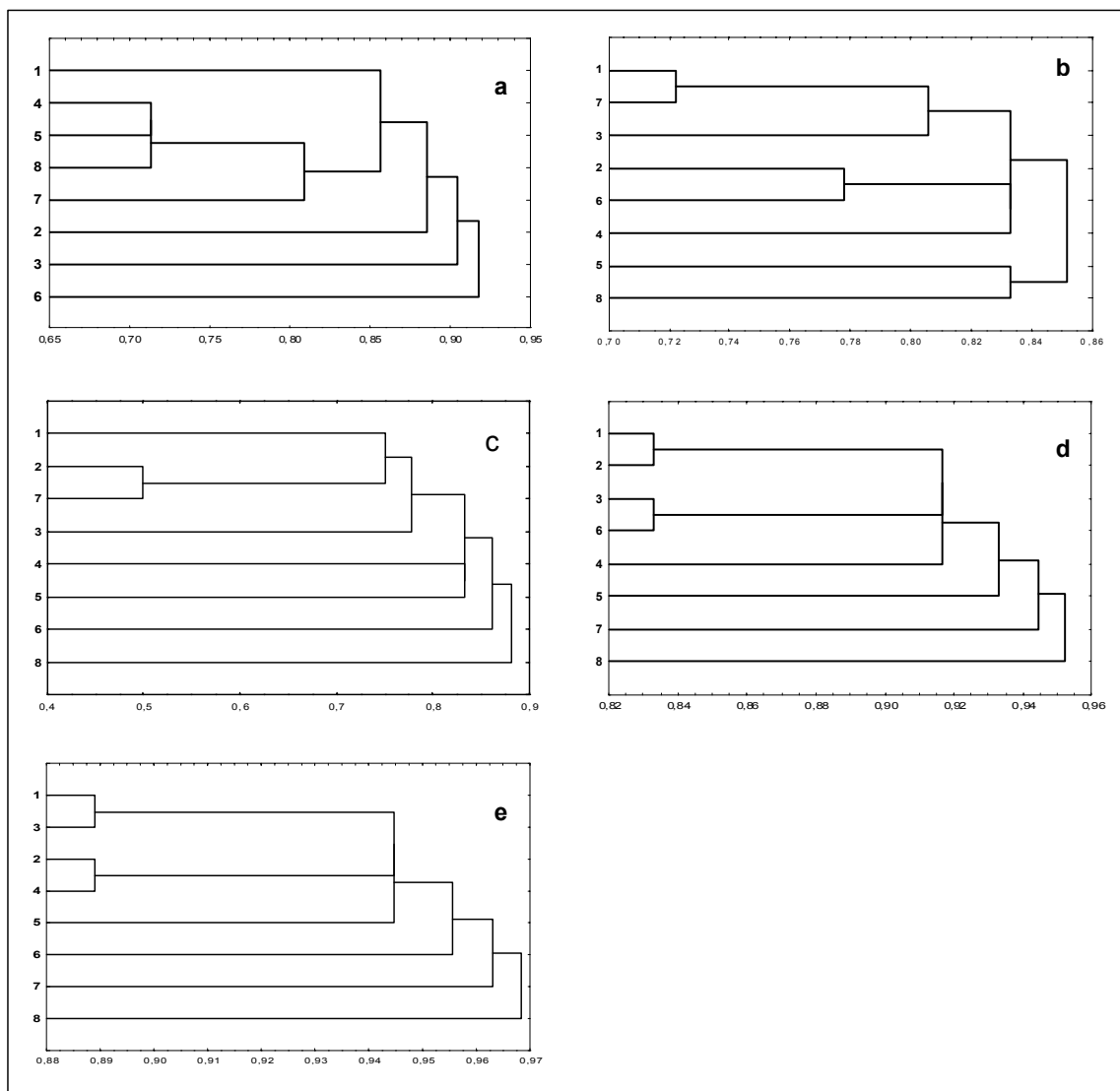


Figura 2 – Dendrograma de dissimilaridade genética obtido pelos géis das frações protéicas das oito variedades de milho crioulo: a) Albuminas; b) Globulinas; c) Zeína I; d) Zeína II; e) Glutelinas. 1) Rosado, 2) Roxo, 3) Sol da manhã, 4) Cunha 01, 5) MPA 13, 6) Amarelão 02, 7) Pixurum 05, 8) Pixurum 06.

Dentre as oito variedades estudadas a que mais se distanciou geneticamente das outras foi a variedade Pixurum 06, pois apresentou alto índice de dissimilaridade (85%) para globulinas e os maiores índices para zeína I, zeína II e glutelinas, apresentando baixa dissimilaridade apenas para albuminas.

### 3.4 Comparação da Carga Superficial das Frações Protéicas

Os eletroferogramas em ECZL demonstrados na Figura 3, referentes às frações albumina, globulina, zeína I e II mostraram que para estas frações, todas as variedades são carregadas positivamente. Isto permite observar também que as variedades apresentam estas frações protéicas com características hidrofóbicas (CUNICO *et al.*, 1998). A ocorrência de picos similares representa um mesmo tempo de retenção, o que significa uma mesma razão entre carga/peso molecular (LINDEBERG, 1996).

Observou-se, no entanto, a presença de um pico peculiar na fração globulina na variedade Cunha 01. Capelli *et al.* (1998) demonstraram que as proteínas albumina e globulina apresentam uma alta tendência de se aderir nas paredes internas dos capilares de sílica fundida, devido a sua alta concentração de aminoácidos. Estas proteínas são consideradas geralmente metabólicas, ou seja, enzimas, e quando extraídas com água, tornam-se potencialmente ativas. Estes fatores podem ter sido a causa da instabilidade na amostra (BEAN e TILLEY, 2003).

O eletroferograma obtido da fração glutelina (Figura 3), o qual mostrou-se o mais complexo dentre as frações, contendo alta diversidade nas cargas dos polipeptídios. As variedades Rosado, Cunha 01, MPA 13 e Amarelão 02 mostraram-se claramente positivas, apresentando picos maiores antes dos 10 minutos de injeção. Os cultivares Roxo, Sol da manhã e Pixurum 05 tiveram picos intermediário. Os dois últimos apresentaram picos tendendo a carga negativa, sendo ligeiramente hidrofílicos. Já a variedade Pixurum 06, teve seu maior pico próximo aos 15 minutos, sendo considerada carregada negativamente e altamente hidrofílica.

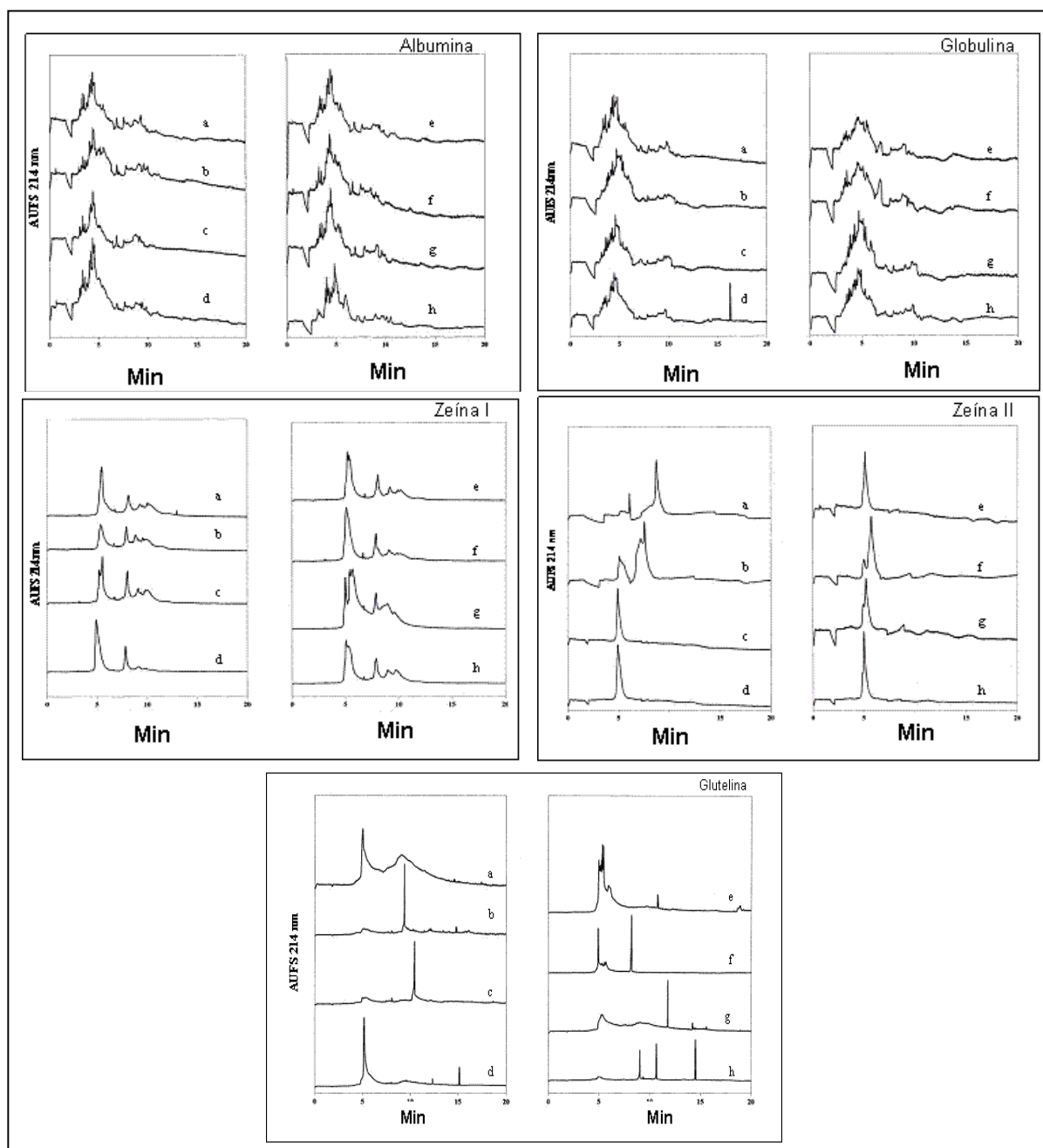


Figura 3 - Eletroferograma de subunidades de proteínas das variedades: Rosado (a), Roxo (b), Sol da manhã (c), Cunha 01 (d), MPA 13 (e), Amarelão 2 (f), Pixurum 05 (g) Pixurum 06 (h) extraídos com n-propanol 50% contendo DTT 1%, sonificados por 45 min, centrifugados a 3000 rpm por 30 seg. Capilar, silicone fundido sem revestimento com diâmetro de 27 x 50  $\mu\text{m}$  ; voltagem, 15 kV; temperatura, 25°C; solução tampão de corrida, tampão fosfato 100 mM (pH 2.5) com acetonitrila 20%, HPMC 0.05% e glicina 0.4%; injeção, pressão a 0.5 psi por 5 sec; detecção, 214 nm.

#### 4. CONCLUSÃO.

- A qualidade protéica do milho crioulo mostrou-se apropriada, levando em consideração que são amostras domésticas, sem a aplicação de tecnologias avançadas e recursos genéticos. O conhecimento e a caracterização destas propriedades são de grande auxílio para programas de melhoramento, por serem variedades genéticas altamente adaptáveis a ambientes variados durante o cultivo;
- As prolaminas foram extraídas em baixa quantidade, porém, através da eletroforese em gel, pode-se observar que as variedades estudadas tem proteínas de qualidade, em relação ao fator dureza, já que todas as amostras contém  $\alpha$ -zeína;
- A eletroforese capilar permitiu caracterizar as variedades de acordo com sua valência. A fração glutelina mostrou alta diversidade de carga superficial, porém esta diversidade não foi apresentada na distribuição de peso molecular, sugerindo que existe a presença de polipeptídios com pesos moleculares semelhantes, porém com diferentes cargas;
- Os dendogramas de dissimilaridade genética sugerem que dentre as oito variedades estudadas a que mais se distanciou geneticamente das outras foi a variedade Pixurum 06, que apresentou alto índice de dissimilaridade (85%) para globulinas e os maiores índices para zeína I, zeína II e glutelinas, apresentando baixa dissimilaridade apenas para albuminas

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

BEAN, S. R.; LOOKHART, J. Electrophoresis of cereal storage proteins. **J. Chromatogr. A**, v.881, p. 23-36, 2000.

BEAN, S. R.; LOOKHART, J.; BIETZ, J. A. Acetonitrile as a buffer additive for free zone capillary electrophoresis separation and characterization of maize (*Zea mays* L.) and sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) storage proteins. **J. Agric. Food Chem.**, v. 48, p. 318-327, 2000.

BEAN, S. R.; TILLEY, M. Separation of water-soluble proteins from cereals by high-performance capillary electrophoresis. **Cereal Chemistry**, v. 80, n. 5, p. 505-510, 2003.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

CAPELLI, L.; FORLANI, F.; PERINI, F.; GUERRIERI, N.; CERLETTI, P.; RIGHETTI, P. G. Wheat cultivar discrimination by capillary electrophoresis of gliadins in isoelectric buffers. **Electrophoresis**, v. 19, p. 311-318, 1998.

CUNICO, R.; GOODING, K.; WEHR, T. **Basic HPLC and CE biomolecules**. Bay Bioanalytical Laboratory, Inc., Richmond, CA, 1998, 145p.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A. Examination of *opaque* mutants of maize by reversed-phase high-performance liquid chromatography and scanning electron microscopy. **Journal of Cereal Science**, v. 19, p. 57-64, 1994.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A.; BIETZ, J. A. Zein composition in hard and soft endosperm of maize. **Cereal Chemistry**, v. 70, n. 1, p. 105-108, 1993.

DOMBRINK-KURTZMAN, M. A.; KNUTSON, C. A. A study of maize endosperm hardness in relation to amylose content and susceptibility to damage. **Cereal Chemistry**, v. 74, p. 776-780, 1997.

DORSEY-REDDING, C., HURBURGH Jr, C. R., JOHNSON, L. A., FOX, S. R. Relationship among maize quality factors. **Cereal Chemistry**, v. 68, n. 6, p. 602-605, 1991.

FUNGARO, M. H. P.; VIEIRA, M. L. C. Marcadores Moleculares. In: SERAFINI, L. A., *et al.*, **Biotecnologia na Agricultura e agroindústria**. Guaíba: Livraria e Editora Agropecuária, 2001, p. 153-200.

GAZIOLA, S.A.; ALESSI, E. S.; GUIMARÃES, P. E. O.; DAMERVAL, C.; AZEVEDO, R. A. Quality protein maize: a biochemical study of enzymes involved in lysine metabolism. **J. Agric. Food Chemistry**, v. 47, p. 1268-1275, 1999.

HAMAKER, B. R.; MOHAMED, A. A.; HABBEN, J. E.; HUANG, C. P.; and LAKINS, B. A. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamins contents than the conventional method. **Cereal Chemistry**, v. 72, p. 583-588, 1995.

LAEMMLI, U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T 4. **Nature**, v. 227, p. 680-685, 1970.

LANDRY, J.; DELHAYE, S.; DAMERVAL, C. Improved method for isolating and quantitating alpha-amino nitrogen as nonprotein, true protein, salt-soluble proteins, zeins, and true glutelins in maize endosperm. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 620-626, 2000.

LANDRY, J.; DELHAYE, S.; DAMERVAL, C. Comparative efficiencies of isopropyl and *tert*-butyl alcohols for extracting zeins from maize endosperm. **J. Agric. Food Chem.** v. 50, p. 4131-4134, 2002.

LANDRY, J.; DELHAYE, S.; DAMERVAL, C. Protein distribution pattern in floury and vitreous endosperm of maize grain. **Cereal Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 153-158, 2004.

LENDING, C. R.; LARKINS, B. A. Effect of the floury-2 locus on protein body formation during maize endosperm development. **Protoplasma**, v. 171, n. 3-4, p. 123-133, 1992.

LI, S. F. Y. Capillary Electrophoresis. Principles, Practice and Applications. **Journal of Chromatography Library**, v. 52, p. 1, 1992

LINDEBERG, J. Capillary electrophoresis in food analysis. **Food Chemistry**, v. 55, n. 1, p. 73-94, 1996.

LOOKHART, G. L.; BEAN, S. R. Improvements in cereal protein separations by capillary electrophoresis: resolution and reproducibility. **Cereal Chemistry**, v. 73, n. 1, p. 81-87, 1996.

LOOKHART, G.; BEAN, S. Rapid differentiation of oat Cultivars and rice cultivars by capillary zone electrophoresis. **Cereal Chemistry**, v. 72, n. 3, p. 312-316, 1995.

LOOKHART, G. L. Cereal protein: composition of their major fractions and methods for identification. In: **Handbook of Cereal Science and Technology**; Lorenz, K. J.; Kulp, K., Eds.; Marcel Dekker: New York, 1991; pp 441-468.

OSBORNE, T. B.; MENDEL, B. Nutritive properties of proteins of the maize kernel. **J. Biol. Chem.**, v. 18, p. 1-16, 1914.



PAIVA, E.; KRITZ, A. L.; PEIXOTO, M. J. V. V. D.; WALLACE, J. C.; and LARKINS, B. A. Quantitation and distribution of  $\gamma$ -zein in the endosperm of maize kernels. **Cereal Chemistry**, v. 68, n. 3, p. 276-279, 1991.

PAULIS, J. W., BIETZ, J. A., and WALL, J. S. Corn protein subunits: Molecular weights determined by sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis. **J. Agric. Food Chem.** v.23, p. 1970-201, 1975

PIERGIOVANNI, A. R.; VOLPE, N. Capillary electrophoresis of gliadins as a tool in the discrimination and characterization of hulled wheats (*Triticum dicoccon* Schrank and *T. spelta* L.). **Cereal Chemistry**, v. 80, n. 3, p. 269-273, 2003.

POMERANZ, Y., HALL, G. E., CZUCHAJOWSKA, Z., MARTÍN, C. R., e LAI, F. S. Test weight, hardness, and breakage susceptibility evaluation dent corn hybrids. **Cereal Chemistry**, v. 63, p. 349, 1986b.

ROHLF, F. J. NTSYS **Numerical Taxonomy System, Applied Biostatistics**. New York, Setauket, 1988.

SILVA, R. P.; LOGUERCIO, L. L.; PAIVA, E. Caracterização dos padrões protéicos do endosperma do milho e sua relação com a estrutura física do grão. **Ciência Agrotec.**, v. 24, n. 3, p. 567-575, 2000.

SNEATH, P. H.A.; SOKAL, R. R. **Numerical Taxonomy**. San Francisco, Freeman, 1973.

WATSON, S. A. Structure and Composition. In: WATSON, S. A. and RAMSTAD, P. E. **Corn, Chemistry and Technology**. St. Paul, MN: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1987, p. 53-78.

WINZOR, D. J. Determination of the net charge (valence) of a protein: a fundamental but elusive parameter. **Analytical Biochemistry**, v. 325, p. 1-20, 2004.

ZHU, J.; KHAN, K. Characterization of monomeric and glutenin polymeric proteins of hard red spring wheats during grain development by multistacking SDS-PAGE and capillary electrophoresis. **Cereal Chemistry**, v. 76, n. 2, p. 262-269, 1999.

## **CAPITULO 4**

**MILHO CRIOULO (Zea mays):**

**INVESTIGAÇÃO DAS PROPRIEDADES REOLÓGICAS DA FARINHA**

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar os fenômenos de gelatinização e retrogradação das farinhas obtidas de grãos inteiros de oito variedades de milho crioulo (*Zea mays*). Estes fatores foram avaliados através da caracterização das propriedades de pasta por RVA e subsequente avaliação da textura dos géis formados. Propriedades dinâmicas foram estudadas através da observação das características reológicas das farinhas, e os módulos de  $G'$  e  $G''$  foram obtidos. A variedade Rosado apresentou a maior viscosidade final em RVA, porém a variedade Sol da manhã teve o maior pico de viscosidade. Diferenças significativas foram encontradas em todos os fatores avaliados ( $p < 0.05$ ). Géis formados em RVA foram utilizados para a avaliação da textura do gel. A firmeza do gel foi avaliada com a aplicação de uma força compressora, utilizada como parâmetro de nível de deformação do gel. A textura do gel é relacionada com o índice de água perdida durante o armazenamento e indica a retrogradação do amido. Diferenças significativas foram encontradas para as variedades Roxo e MPA 13 ( $p < 0.05$ ). O maior nível de retrogradação, nas condições analisadas, foi encontrado para a amostra MPA 13. A determinação das propriedades viscoelásticas da farinha permitiu observar que  $G'$  e  $G''$  foram levemente influenciados pela oscilação de frequência, com valores de  $G'$  maiores do que  $G''$  para todas as amostras. Este dado possibilita a classificação do gel como fraco. O cálculo de  $\tan \delta$  pode ser utilizado como um indicativo da estrutura do gel, e os valores encontrados permitem classificar os géis formados como uma estrutura mais elástica do que viscosa. A utilização dos grãos inteiros para a obtenção das farinhas pode ter influenciado os resultados obtidos. As suspensões diluídas de amido utilizadas neste trabalho se caracterizaram por não apresentarem a formação de cadeias estáveis e pontes de hidrogênio fortemente ligadas. O estudo das características reológicas das farinhas facilitam a aplicação em processamento de produtos à base de amido.

Palavras-chave: milho crioulo; amido; gelatinização; retrogradação; RVA; textura de gel; propriedades reológicas.

## 1. INTRODUÇÃO.

O milho (*Zea mays*) é um dos cereais que apresenta maior índice de aplicações dentro do segmento industrial. O grão pode ser utilizado para a obtenção de farinha e amido, produção de óleo, elaboração de formulações alimentícias e ração animal (BULL e CANTARELLA, 1993).

O principal componente do milho é o amido, o qual corresponde a aproximadamente 75% do peso total do grão (WATSON, 1987), e é formado por dois polímeros de glicose, amilose e amilopectina (BULÉON *et al.*, 1998).

Os grânulos de amido apresentam birrefringência quando observados em microscópio óptico sob luz polarizada, o que indica um certo grau de organização molecular. A parte linear das moléculas de amilopectina forma estruturas helicoidais duplas, estabilizadas por pontes de hidrogênio entre grupamentos hidroxila. São elas que dão origem às regiões cristalinas dos grânulos. A região amorfa é composta pelas cadeias de amilose e pelas ramificações da amilopectina (RIDOUT *et al.*, 2002; ZOBEL, 1988).

Quando os grânulos de amido são submetidos ao aquecimento, ocorre um desarranjo molecular na presença de água (TESTER e MORISSON, 1990), causando um colapso no interior dos grânulos de amido, manifestando mudanças irreversíveis como inchamento, perda da birrefringência e cristalinidade, dissociação das duplas hélices e solubilização do amido (NELLES *et al.*, 2000). Este fenômeno é denominado gelatinização e é acompanhado pela formação de pasta (“pasting”) que ocorre através do aquecimento contínuo (MITA, 1992), acima da temperatura de gelatinização, causando um aumento da viscosidade (NELLES *et al.*, 2000).

A gelatinização do grânulo de amido é um dos fatores que exerce maior influência sobre suas propriedades funcionais, incluindo melhorias na palatabilidade e aspectos sensoriais (D'APPOLONIA e MORAD, 1981).

Em condições de estocagem, estes géis sofrem mudanças estruturais, denominadas como retrogradação ou recristalinização. Este fenômeno ocorre através da interação intermolecular pela formação de pontes de hidrogênio entre cadeias de amido, durante o resfriamento do gel (HOOVER, 2001). Em longo prazo, este processo

é considerado indesejável, já que desenvolve características texturais desagradáveis em alimentos a base de amido.

Devido a isso, o conhecimento das propriedades viscoelásticas dos alimentos e de seu comportamento durante o processamento é de grande interesse para as indústrias alimentícias (WANG *et al.*, 2000; SOUZA e ANDRADE, 2000). As características reológicas do amido são amplamente relacionadas com a interação e sinergismo das estruturas (YANG *et al.*, 2004), e este conhecimento pode ser aplicado nos processamentos dos alimentos a base de amido (BARBOSA-CÁNOVAS *et al.*, 1996).

Propriedades de pasta do amido são amplamente estudadas, e podem ser determinadas através da observação de mudanças na viscosidade durante o aquecimento e resfriamento intencional de uma suspensão de amido (FREDRIKSSON *et al.*, 1998), e a análise de textura dos géis é adaptada ao estudo da retrogradação do amido em alimentos (JANKOWSKI, 1992).

Este trabalho teve como objetivos a caracterização e a comparação das propriedades de pasta de suspensões de farinha de grãos inteiros de oito variedades de milho crioulo; analisar a firmeza dos géis obtidos a partir das mesmas, e estudar as propriedades viscoelásticas destas farinhas.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS.**

Oito variedades brasileiras de milho crioulo (*Zea mays*), cultivadas no ano de 2003, pelos agricultores da Associação dos Pequenos Agricultores Produtores de Milho Crioulo Orgânico e Derivados (ASSO), na região oeste do Estado de Santa Catarina, foram analisadas.

Para obtenção da farinha, os grãos de milho foram triturados em moinho (*Udy Cyclone Sample Mill*) equipado com peneiras acopladas de 0,5mm.

## **2.1. Propriedades de pasta.**

Propriedades de pasta das farinhas de oito cultivares de milho crioulo foram determinadas utilizando um viscosímetro *Rapid Visco Analyser* (RVA) (modelo RVA-4, Newport Scientific, Austrália).

As análises foram realizadas seguindo a metodologia da AACC 76-21 (AACC, 1990). Quantidades pré-calculadas de farinha de milho foram adicionadas à água destilada previamente pesada. A massa total de farinha e água foi de 28g. Antes da análise a suspensão (7% p/p) foi agitada manualmente para homogeneizar e remover possíveis bolhas presente. A viscosidade da solução foi monitorada em um tratamento térmico. Os resultados deste tratamento são chamados propriedades de pasta. A suspensão foi equilibrada a 50 °C por 1 minuto, aquecida a 95 °C a uma razão de 6°C/min, mantida a 95 °C por 5 minutos, resfriada a 50 °C na faixa de 6 °C/min, e mantida nesta temperatura pelo restante do tempo da análise. O tempo total de análise foi de 23 minutos. A suspensão foi agitada a 160 rpm durante todo o experimento. As propriedades de pasta foram analisadas em duplicata com o objetivo de confirmar a reprodutibilidade dos resultados.

## **2.2. Firmeza de gel.**

A firmeza de géis de oito amostras de farinha de milho crioulo integral foi determinada de acordo com o método desenvolvido por FRIEDMAN *et al.* (1963). Os géis foram formados durante a análise de RVA usando 3,5g de farinha adicionadas à água destilada, obtendo um total de massa de 28g. Estes foram transferidos para béqueres de 50 mL, selados com filme de parafina e deixados descansar por 20 horas em temperatura ambiente.

A análise de perfil de textura (APT) foi realizada após o tempo de descanso e os géis foram submetidos a uma compressão singular utilizando o equipamento *Texture Analyzer* TA-XT2i (Texture Technologies Corp, Scarsdale, NY), com um probe cilíndrico

de 7 mm de diâmetro. Os resultados obtidos da curva força x tempo foram calculados pelo programa *Texture Expert for TPA* (Texture Profile Analysis). As condições de medida foram padronizadas em distância do probe 4 mm e velocidade de compressão de  $0.5 \text{ mm.s}^{-1}$ . Todas as análises foram realizadas em duplicata e os resultados foram expressos como medidas de dureza em gramas.

### **2.3. Reologia.**

As propriedades dinâmicas reológicas das farinhas integrais de milho crioulo foram investigadas pela determinação do módulo de armazenagem ( $G'$ ), módulo de perda ( $G''$ ) e fator de perda ( $\tan \delta$ ).

As análises foram realizadas em reômetro TA-Instruments (Modelo AR 1000-N, TA Instruments, Surrey, UK) usando sistema de prato e cone (4 cm diâmetro e ângulo de  $3^\circ 58'$ ).

Os testes de varredura de tensão oscilatória foram realizados dentro de uma tensão de 0.001 a 100 Pa, com uma frequência constante de 0.1 Hz para determinar a região viscoelástica linear (LVR – linear viscoelastic region).

Suspensões de farinha de 7% (p/v) (HAN *et al.*, 2002a, b) foram preparadas e 1,2 mL foram transferidos para o centro do prato do reômetro.

Para determinação dos parâmetros reológicos ( $G'$ ,  $G''$ ,  $\tan \delta$ ) de todas as amostras, foram utilizadas variação de frequência de 0.1 a 100 Hz e tensão de 0.3 Pa (LVR). Uma distância (GAP) de 45000  $\mu\text{m}$  foi utilizada e a curva de aquecimento foi de  $25^\circ\text{C}$  a  $95^\circ\text{C}$  em uma taxa de  $10^\circ\text{C/min}$ , e então resfriadas para  $80^\circ\text{C}$ .

As análises foram repetidas cinco vezes para cada amostra a fim de garantir a reprodutibilidade dos dados.

### **2.4. Delineamento experimental.**

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado com oito tratamentos e três repetições para os resultados de propriedades de pasta e firmeza de gel. A variação de propriedades de pasta e firmeza de géis foi realizada através da uma

análise de variância (ANOVA), utilizando o programa STATISTICA versão 6.0 (2001), analisadas ao nível de 5% de probabilidade.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.

#### 3.1. Propriedades de Pasta.

As propriedades das pastas foram obtidas pelo monitoramento da viscosidade de soluções de farinhas submetidas a tratamento térmico.

Diferenças significativas foram observadas nas propriedades de pasta das diferentes cultivares estudadas (Tabela 01), e podem ser visualizadas pela Figura 01.

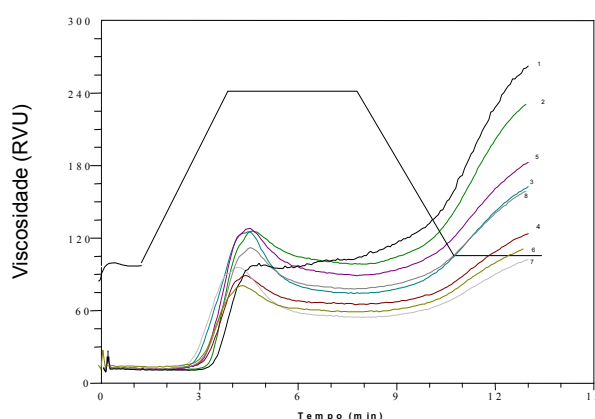


Figura 1 - Amilograma de RVA de oito amostras de milho crioulo. 1) Rosado, 2) Roxo, 3) Sol da manhã, 4) Cunha 01, 5) MPA 13, 6) Amarelão 02, 7) Pixurum 05, 8) Pixurum 06.

Pico de viscosidade (Pvisc) é um indicativo da máxima viscosidade que as farinhas de milho foram capazes de alcançar. E pode ser utilizado como um indicativo do grau de gelatinização e cozimento de produtos a base de amido (WALKER *et al.*, 1992). A média do Pvisc para todas as variedades foi 108 RVU, com valores entre 94,7 RVU (Pixurum 05) e 130,2 RVU (MPA 13). De acordo com Almeida-Domingues *et al.* (1997) a presença de diferentes constituintes, que não são amido, podem ser a causa



de picos de viscosidade maiores. Como por exemplo, no estudo realizado por Hamaker e Griffin (1990) observou-se, na determinação da viscosidade do arroz, que a redução ou a ausência da matriz protéica faz com que os grânulos de amido de arroz se tornem mais frágeis, promovendo a quebra da estrutura, causando uma diminuição da capacidade de desenvolver viscosidade durante o aquecimento. Diferente deste caso, onde o amido de arroz se encontra praticamente purificado ou concentrado, nas amostras de milho crioulo estudadas, utilizou-se farinha de grãos inteiros moídos, e desta forma, na presença de outros constituintes além do amido.

TABELA 01 - Propriedades de pasta<sup>h</sup> de oito cultivares de milho crioulo<sup>i</sup>.

Amostra	P visc (RVU)	PTpt (°C)	Ptempo (min)	Breakdown (RVU)	Setback (RVU)	V final (RVU)
<b>Rosado</b>	98,75a, b, c	77,45e	6,90d	5,71a	158,63d	251,67e
<b>Roxo</b>	129,13d	76,85d, e	4,57c	29,67c, d	132,54d	232,00d, e
<b>Sol da manhã</b>	120,83c, d	71,45a, b	4,47b, c	50,13g	82,04b, c	152,75b, c
<b>Cunha 01</b>	99,2a, b, c	74,68c, d	4,43b	25,92b, c	70,13a, b, c	143,42a, b, c
<b>MPA 13</b>	130,17d	73,90b, c	4,53b, c	39,71e, f	96,46c	186,92c, d
<b>Amarelão 02</b>	79,42a	75,98c, d, e	4,47b, c	21,75b	52,54a, b	110,21a, b
<b>Pixurum 05</b>	94,71a, b	70,25b, c	4,13a	41,79f	47,17a	100,08a
<b>Pixurum 06</b>	112,0b, c, d	74,30c, d, e	4,57c	33,92d, e	79,46b, c	157,54b, c
<b>CV<sup>2</sup>%</b>	5,62	0,92	0,70	4,74	8,51	7,49

<sup>j</sup> Numa mesma coluna, médias com letras diferentes, apresentam diferença significativa (Teste de Tukey, p< 0,05)

<sup>h</sup> P visc = Pico de viscosidade; V final = viscosidade final; breakdown; setback (V final – P visc); P tempo= tempo requerido para alcançar o pico de viscosidade; P tpt= temperatura para formação do gel.

<sup>i</sup> Valores são uma média de duas replicatas.

<sup>2</sup> Coeficiente de variação das análises realizadas

O tempo requerido para chegar ao pico de viscosidade (Ptempo) e a temperatura para formação de pasta (Pasta tpt) apresentaram médias de 4,8 minutos e 74,4 °C, respectivamente. A temperatura de formação de pasta é um representativo da temperatura necessária para o início da gelatinização (WALKER *et al.*, 1998). As diferenças na temperatura entre as diferentes variedades podem ser atribuídas a diferenças no grau de cristalinização. Altas temperaturas são relatadas como resultantes de um alto grau de cristalinidade, o que provém de uma estrutura estável tornando o grânulo mais resistente a gelatinização (BARICHELO *et al.*, 1990). Amidos com maior quantidade de amilose, apresentam uma maior região amorfa, e conseqüente menor região cristalina, e assim, temperaturas de gelatinização menores (SASAKI *et al.*, 2000).

A média final de “breakdown” foi de 31,1 RVU, apresentando uma variação de aproximadamente 44 RVU, onde o valor mínimo foi de 5,7 RVU para a variedade Rosado e o máximo de 50,1 RVU para Sol da manhã. Este fator é representado por um declínio da viscosidade (breakdown) (HOSENEY, 1994), e tendo como consequência a ruptura dos grânulos, chegando a viscosidade mínima encontrada após o pico. Suspensões de amido que não apresentam um alto pico de viscosidade podem ser menos susceptíveis a quebra quando submetidos a altas temperaturas, ou seja, apresentam valores de “breakdown” menores (SINGH *et al.*, 2003), o que ocorreu com a variedade Rosado.

“Setback” é a estabilidade da pasta durante o cozimento (DENGATE, 1984), e os valores são indicativos de tendências de retrogradação do amido (HOOVER, 2001). Sob condições de resfriamento, o amido começa a se reassociar através das cadeias de amilose (JANE e ROBYT, 1984), resultando em um aumento da viscosidade (HOSENEY, 1994), e numa diminuição da capacidade de se solubilizar (HOOVER, 1995). Este parâmetro é estimado pelos valores encontrados pela  $V_{final}$  subtraídos pelos  $P_{visc}$ , e resultou em uma média de 89,8 RVU para todas as variedades, variando de 47,2 a 158,6 RVU.

Os valores de viscosidade final ( $V_{final}$ ) variaram de 100,1 a 251,7 RVU com uma média de 166,8 RVU para os cultivares estudados. No final do período de resfriamento, há um aumento da viscosidade devido a um decréscimo de energia. Esta abstinência e o resfriamento da suspensão têm como consequência a formação de pontes de hidrogênio entre as cadeias de amido (HOSENEY, 1994; MILES *et al.*, 1985). De acordo com Han *et al.* (2002a) suspensões contendo amido associado a proteínas demonstram viscosidades menores do que aquelas contendo amido purificado. Segundo Almeida-Domingues *et al.* (1997), a avaliação do grão inteiro moído em RVA pode vir a ser útil para a seleção de endospermas em programas de melhoramento.

### **3.2. Firmeza do gel.**

A determinação da firmeza do gel é obtida através da análise de textura de uma amostra, a qual sofre uma força compressiva, representada como uma quantidade

de compressão (distância). A dureza do gel é definida através da força requerida para quebrar ou deformá-lo.

A firmeza de géis de amido é amplamente relacionada com a retrogradação (KARIM *et al.*, 2000), a qual contribui para o endurecimento de produtos a base de amido (D'APPOLONIA e MORAD, 1981), através de mudanças estruturais, mecânicas e organolépticas (COLONNA *et al.*, 1992).

Diferenças significativas entre as amostras Roxo e MPA 13 foram observadas (Tabela e Figura 2).

TABELA 2 - Firmeza de gel<sup>1</sup> de variedades de oito cultivares de milho crioulo.

Variedades	Firmeza de Gel <sup>1</sup> (g)
Rosado	19.94 <sup>a, b</sup>
Roxo	18.04 <sup>a</sup>
Sol da manhã	25.31 <sup>a, b</sup>
Cunha 01	26.38 <sup>a, b</sup>
MPA 13	29.53 <sup>b</sup>
Amarelão 02	24.30 <sup>a, b</sup>
Pixurum 05	21.72 <sup>a, b</sup>
Pixurum 06	23.32 <sup>a, b</sup>
CV <sup>2</sup> %	103,46

Numa mesma coluna, médias com letras diferentes, apresentam diferença significativa (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ )

<sup>1</sup> Máxima força da primeira compressão (n = 4), média de duas repetições por amostra

<sup>2</sup> Coeficiente de variação das análises realizadas

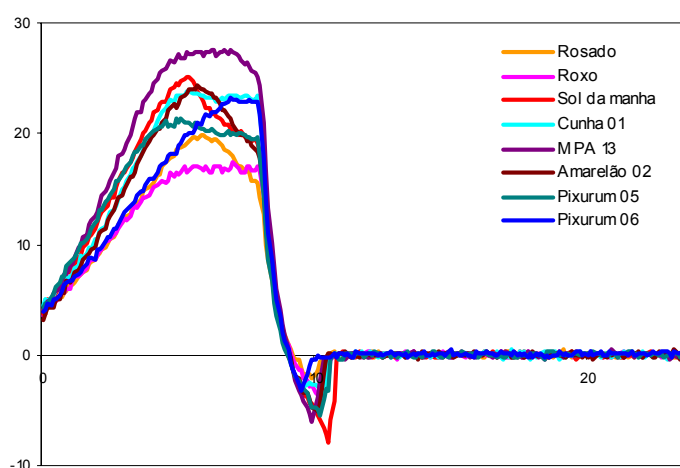


Figura 2 - Gráfico representativo da análise de textura de gel de amostra de oito cultivares de milho crioulo.

### 3.3 Propriedades Reológicas

As propriedades reológicas das farinhas das oito variedades de milho crioulo foram avaliadas. As análises foram repetidas cinco vezes para cada variedade. Um grande número de replicatas de dimensões uniformes é requerido para obter reprodutibilidade aceitável usando os mesmos métodos, já que a heterogeneidade de dados reológicos dentro e entre as amostras pode afetar seriamente a validade dos resultados obtidos. Os dados obtidos são mostrados na Figura 3.

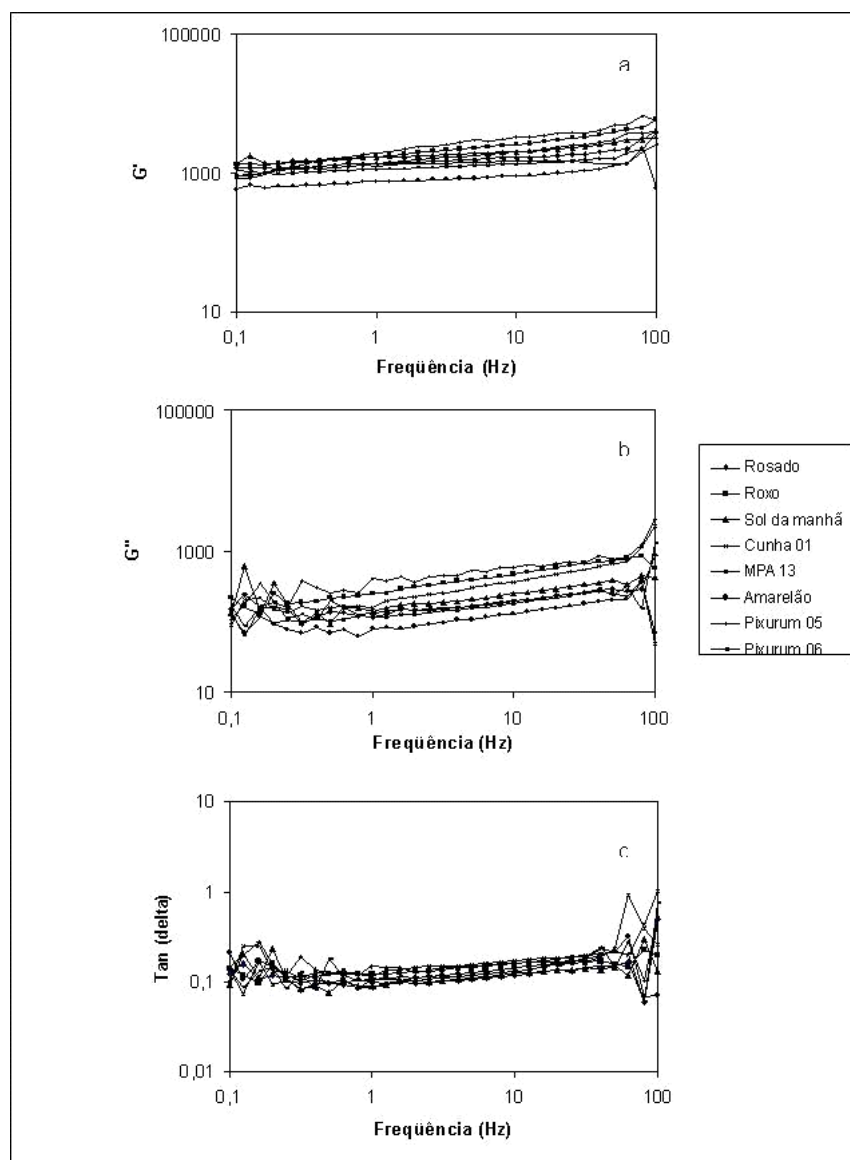


Figura 03 - Gráficos representativos dos experimentos dinâmicos oscilatórios dos cultivares de milho crioulo: a) Módulo de armazenamento de energia  $G'$ ; b) Módulo de perda  $G''$ ; c) fator de perda ( $\tan \delta$ ).

As suspensões de farinha foram aquecidas de 25°C a 95°C para permitir o inchamento dos grânulos de amido e a formação de pasta, e logo após foram resfriadas a 80°C.

A determinação das propriedades reológicas da farinha forneceram as respostas dinâmicas das amostras durante o teste, com uma variação de frequência aplicada. Os resultados obtidos foram observados através dos módulos de armazenamento de energia ( $G'$ ), de energia dissipada ou perdida ( $G''$ ), e pela razão entre  $G''$  e  $G'$  definido como  $\tan \delta$  (STEFFE, 1996).

Todas as variedades estudadas apresentaram valores de  $G'$  maiores do que os de  $G''$  (Figura 03 e Anexo 01), e as duas magnitudes aumentaram suavemente com o aumento da frequência de oscilação, revelando um comportamento de gel fraco (STEFFE, 1996), o qual consumiu toda a energia produzida durante a análise para sua deformação (TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁNOVAS, 2005).

Valores de  $G'$  e  $G''$  de soluções de amido de milho são dependentes da presença de outros compostos, como os fosfolipídios, e da estrutura granular (SINGH *et al.*, 2002). A provável formação do complexo amilose-lipídio durante a gelatinização diminui os níveis de  $G'$  e  $G''$  (SINGH *et al.*, 2002), os quais resultam em valores inferiores àqueles observados em soluções de amido purificados (HAN *et al.*, 2002).

Géis de amido consistem em partículas inchadas dispersas em uma rede tridimensional de cadeias de amilose agregadas. Durante o resfriamento, pontes de hidrogênio são formadas gradualmente, e isso aumenta os valores de  $G'$  (TSAI *et al.*, 1997). Porém, suspensões não purificadas de amido apresentam um aumento da temperatura de gelatinização através da redução do inchamento dos grânulos e ao mesmo tempo, ação efetiva no impedimento da formação de duplas hélices em condições de resfriamento do amido, característicos da retrogradação, causando uma diminuição dos níveis de  $G'$  (CHANG *et al.*, 2004) em relação aos valores encontrado em suspensões de amido purificado.

Yang *et al.* (2004) mostraram que a presença de proteínas em dispersões de amido-água enfraquece a estrutura do gel. Em dispersões de amido-proteína, quanto menor a concentração de proteínas, mais fraco é o gel e menor é o valor de  $G'$ , porém, com o aumento do conteúdo de proteínas, este gel torna-se mais firme ( $>G'$ ), ainda que

mais fraco do que géis formados a partir de amido e água. Durante o resfriamento do sistema amido-proteína há um aumento da viscosidade que pode ser devido à formação de pontes hidrofóbicas pela interação de proteína-proteína.

O valor resultante do cálculo de  $\tan \delta$  pode ser associado à estrutura do material. Os índices encontrados neste estudo, de aproximadamente 0,1Pa, sugerem que o material apresenta estrutura característica de polímero com cristalinidade vítrea ou gel (STEFFE, 1996).

As variedades estudadas apresentaram farinhas com uma estrutura de gel fraco e com índices de retrogradação razoáveis, podendo ser usadas, por exemplo, para fabricação de produtos submetidos a processos de secagem, com “snacks” e “tortillas”.

#### **4. CONCLUSÃO.**

- A variedade Rosado teve a maior viscosidade final e setback, e o menor breakdown observado entre as variedades.
- As farinhas estudadas demonstraram propriedades de um material elástico e com uma estrutura de gel fraco. Isso pode estar associado ao fato de os grânulos de amido estarem na presença de outros componentes, como proteínas e fibras, formando géis instáveis, podendo ser indicadas para a formação de produtos como “snacks” e “tortillas”, pois são submetidos a processos de secagem;
- Os géis formados com as farinhas demonstraram índices de retrogradação razoáveis, apesar deste fenômeno estar associado também à composição do gel.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

ALMEIDA-DOMINGUEZ, H. D.; SUHENDRO, E. L.; ROONEY, L. W. Factors affecting rapid visco analyser curves for the determination of maize kernel hardness. **Journal of Cereal Science**, v. 25, p. 93-102, 1997.

AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEMISTS. **Approved methods of the American Association of Cereal Chemists**. 9. ed. Saint Paul: AACC, 1990. 1 v. (paginação irregular).

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; KOKINI, J. L.; MA, L.; IBARZ, A. The rheology of semiliquid foods. **Advances in Food and Nutrition Research**, v. 39, p. 1-69, 1996.

BARICHELLO, V.; YADA, R. Y.; COFFIN, R. H.; STANLEY, D. W. Low temperature sweetening in susceptible and resistant potatoes: starch structure and composition. **Journal of Food Science**, v. 54, p. 1054-1059, 1990.

BULÉON, A.; COLONNA, P.; PLANCHOT, V.; BALL, S. Starch granules: structure and biosynthesis. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 23, p. 85-112, 1998.

BULL, L. T., CANTARELLA, H. **Cultura do milho – Fatores que afetam a produtividade**. Piracicaba, SP, 1993, p. 2-64.

CHANG, Y. H.; LIM, S. T.; YOO, B. Dynamic rheology of corn starch-sugar composites. **Journal of Food Engineering**, v. 64, p. 521-527, 2004.

COLONNA, P.; LELOUP, V.; BULÉON, A. Limiting factors of starch hydrolysis. **European Journal of Clinical Nutrition (Suppl. 2)** v. 46, p. S17-S32, 1992.

D'APPOLONIA, B. L., MORAD, .M M. Bread staling. **Cereal Chemistry**, v. 58, n. 3, p. 186-190, 1981.

DENGATE, H. N. Swelling, pasting, and gelling of wheat starch. In: Y. Pomeranz. **Advances in cereal science and technology**, American Association of Cereal Chemists, Minnesota, 1984, p. 49-82,.

FREDRIKSSON, H.; SILVERIO, J.; ANDERSSON, R.; ELIASSON, A.-C.; AMAN, P. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches. **Carbohydrate Polymers**, v. 35, p. 119-134, 1998.

FRIEDMAN, H.H.; WHITNEY, J.E.; SZCZESNIAK, A.S. The texturometer – a new instrument for objective texture measurement. **Journal of Food Science**, v. 28, n.4, p. 390-396, 1963.

HAMAKER, B. R.; GRIFFIN, V. K. Changing the viscoelastic properties of cooked rice through protein disruption. **Cereal Chemistry**, v. 67, p. 261-264, 1990.

HAN, X.-Z.; CAMPANELLA, O. H.; GUAN, H.; KEELING, P. L.; HAMAKER, B. R. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic properties of starch paste. **Carbohydrates Polymers**, v. 49, 323-330, 2002b.

HAN, X.-Z.; CAMPANELLA, O. H.; GUAN, H.; KEELING, P. L.; HAMAKER, B. R. Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part I. Large deformation measurements of paste properties. **Carbohydrates Polymers**, v. 49, 315-321, 2002a.

HAN, X.-Z.; CAMPANELLA, O. H.; MIX, N. C.; HAMAKER, B. R. Consequence of starch damage on rheological properties of maize starch pastes. **Cereal Chemistry**, v. 79, n. 6, p. 897-901, 2002c.

HOOVER, R. Composition, molecular structure, and physiochemical properties of tuber and root starches: a review. **Carbohydrate Polymers**, v. 45, 253-267, 2001.

HOOVER, R. Starch retrogradation. **Food Reviews International**, v. 11, n. 2, p. 331-346, 1995.

HOSENEY, R. C. **Principles of cereal science and technology**. 2º Edição. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, 1994, p. 29-34.

JANE, J. L.; ROBYT, J. F. Structures studies of amylose V complexes and retrograded amylose by action of alpha amylase, a new method for preparing amyloextrins. **Carbohydrates Research**, v. 132, p. 105-110, 1984.

JANKOWSKI, T. Influence of starch retrogradation on the texture of cooked potato tuber. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 27, p. 637-642, 1992.

KARIM, A. A.; NORZIAH, M. N.; SEOW, C. C.; Methods for the study of starch retrogradation, **Food Chemistry**, v. 71, p. 9-36, 2000.

MILES, M. J., MORRIS, V. J., ORFORD, P. D., RING, S. G. The roles of amylose and amylopectin in the gelatinization and retrogradation of starch. **Carbohydrates research**, v. 135, p. 247-269, 1985.

MITA, T. Structure of potato starch pastes in the ageing process by the measurement of their dynamic moduli. **Carbohydrate Polymers**, v. 17, p. 269-276, 1992.

NELLES, E. M.; DEWAR, J.; BASON, M. L.; TAYLOR, J. R. N. Maize biphasic pasting curves. **Journal of Cereal Science**, v. 31, p. 287-294, 2000.



RIDOUT, M. J.; GUNNING, A. P.; PARKER, R. H.; MORRIS, V. J. Using AFM to image internal of starch granules. **Carbohydrate Polymers**, v. 50, p. 123-132, 2002.

SASAKI, T.; YASUI, T.; MATSUKI, J. Effect of amylose content on gelatinization, retrogradation and pasting properties of starches from waxy and non-waxy wheat and their F1 seeds. **Cereal Chemistry**, v. 77, p. 58-63, 2000.

SEETHARAMAN, K.; TZIOTIS, A.; BORRAS, F.; WHITE, P. J.; FERRER, M.; ROBUTTI, J. Thermal and functional characterization of starch from Argentinean corn. **Cereal Chemistry**, v. 78, n. 4, p. 379-386, 2001.

SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N. S.; GILL, B. S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, p. 219-231, 2003.

SOUZA, R. C. R.; ANDRADE, C. T. Investigação dos processo de gelatinização e extrusão de amido de milho. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 10, n. 1, p. 24-30, 2000.

STEFFE, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2<sup>o</sup> Edition. Freeman Press. East Lansing, MI, USA, 1996, p. 294-348.

TABILO-MUNIZAGA, G.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 147-156, 2005.

TESTER, R. F.; MORISSON, W. R. Swelling and gelatinization of cereal starches, **Cereal Chemistry**, v. 67, p. 558-563, 1990.

TSAI, M. L.; LI, C. F.; LII, C. Y. Effects of granular structures on the pasting behaviours of starches. **Cereal Chemistry**, v. 74, n. 6, p. 750-757, 1997.

WALKER, C. E.; ROSS, A. S.; WRIGHLEY, C. W. and McMASTER, G. J. Accelerated starch-paste characterization with rapid visco analyzer. **Cereal Food World**. v. 33, p. 491-493, 1998.

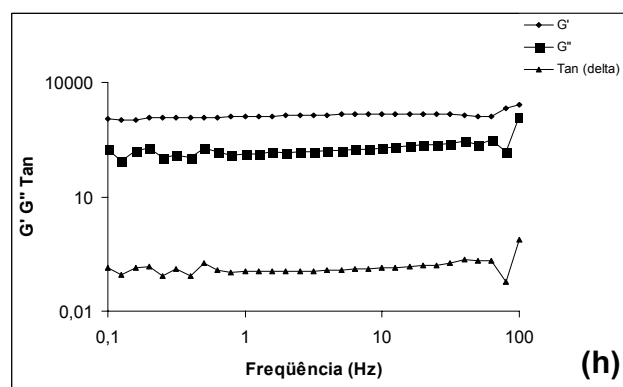
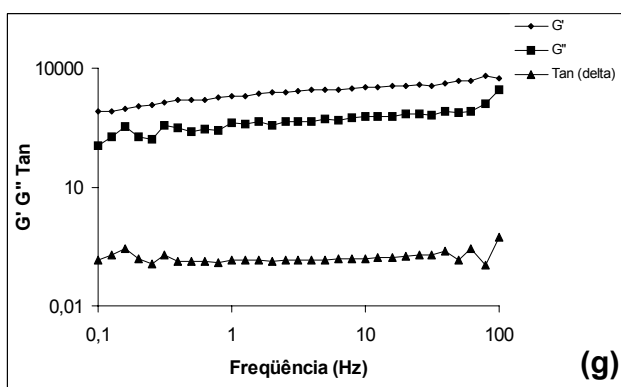
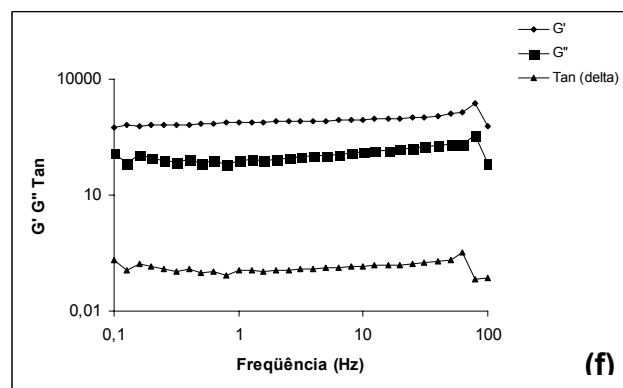
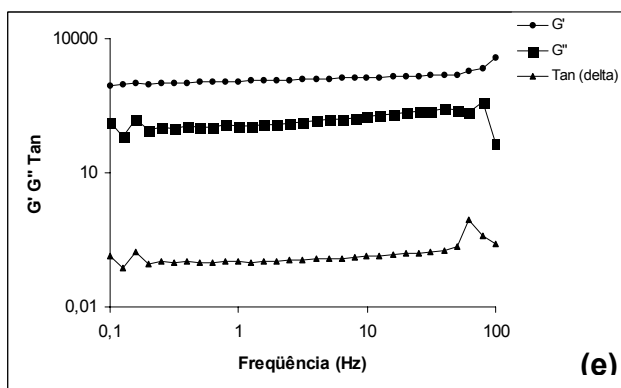
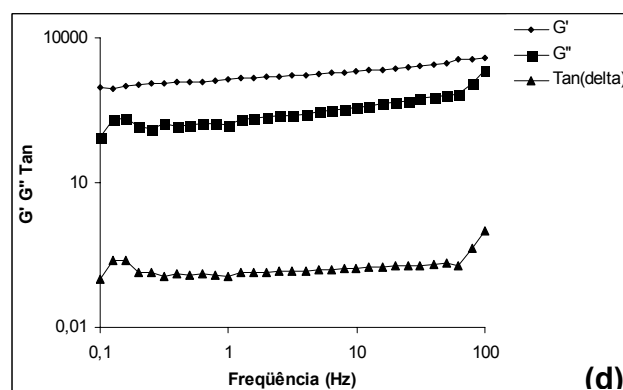
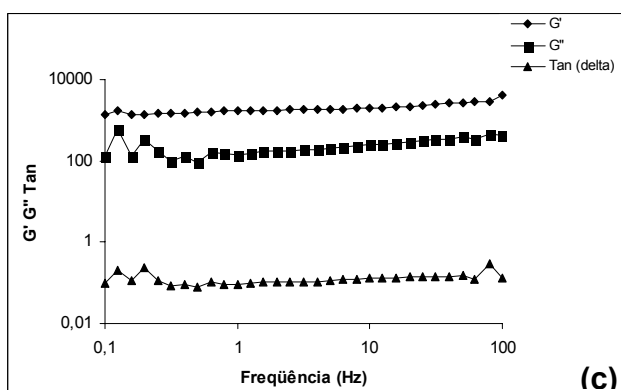
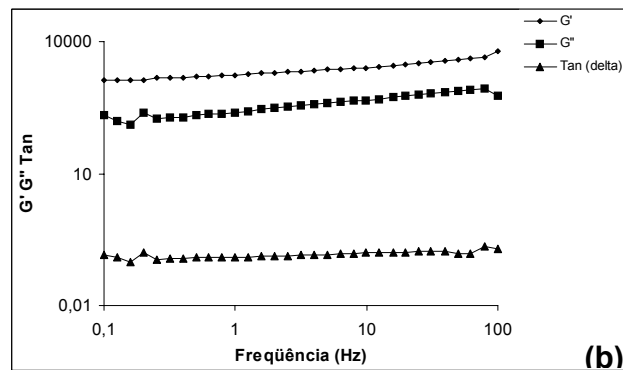
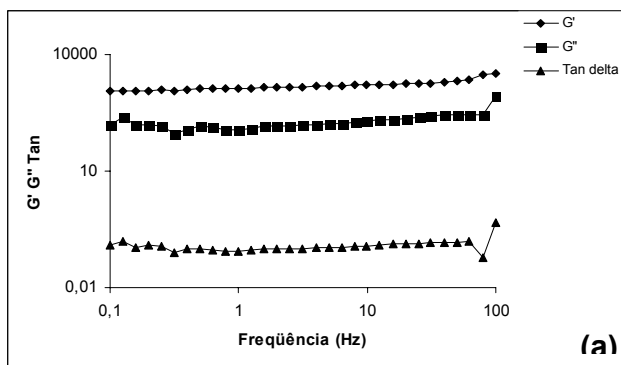
WANG, S. H.; MAIA, L. H.; SILVA, L. F. M.; CABRAL, L. C. Estudo das propriedades reológicas e sensoriais após reconstituição dos mingaus desidratados de arroz e soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.8, n.1, p.68-73, 2000.

WATSON, S. A. Structure and Composition. In: WATSON, S. A. and RAMSTAD, P. E. **Corn, Chemistry and Technology**. St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists, Inc. 1987, p. 53-78.

YANG, H.; IRUDAYARAJ, J.; OTGONCHIMEG, S.; WALSH, M. rheological study of starch and dairy ingredient-based systems. **Food Chemistry**, v. 86, p. 571-578, 2004.

ZOBEL, H. F.; YOUNG, S. N.; ROCCA, L. A. Starch gelatinization. **Cereal Chemistry**, v. 66, p. 443-446, 1988.

## **Anexo**



Anexo 01 - Gráficos representativos dos experimentos dinâmicos oscilatórios dos cultivares de milho crioulo Rosado (a), Roxo (b), Sol da manhã (c), Cunha 01 (d), MPA 13 (e), Amareirão 2 (f), Pixurum 05 (g) Pixurum 06 (h).

## **ALGUMAS SUGESTÕES DE USO.**

No milho nada se perde: o seu caule maduro é alimento para o gado; os grãos são reservas de amido, glicose, óleo característico por ser amarelo-claro de odor e sabor característico; dextrinas, álcool industrial e diversas bebidas alcoólicas. Fibras têm sido aproveitadas em fabricação do papel. Os grãos são muito nutritivos, com uma elevada proporção de carboidratos, gorduras e proteínas. Servem de alimento para os animais domésticos. O milho, industrializado para fins alimentícios, fornece o fubá, a canjica, a canjiquinha e o amido. Do fubá obtêm-se o angu, o pão-de-milho, a broa, o mingau, o cubu, etc. A canjica é o grão de milho quebrado e bem cozido, misturado ao leite de coco e amendoim torrado é um prato muito saboroso. A canjiquinha é o grão de milho quebradinho que, bem cozido em água, se assemelha ao arroz. Com base nos resultados obtidos, algumas indicações de uso são possíveis.

### **a. Óleo de milho**

Para a obtenção de óleo de milho, o rendimento está altamente relacionado com o teor de óleo no grão do milho. Neste estudo, verificou-se que a variedade Cunha 01 apresentou o maior teor de lipídios dentre os cultivares.

### **b. Flocos de milho e “snacks”**

Para a produção de flocos de milho e salgadinhos, como conhecidos no Brasil, a coloração dos grãos é de grande importância. Outro fator de igual relevância é o conteúdo de umidade, já que este irá interferir diretamente na qualidade do produto., durante a extrusão. Para esta finalidade pode-se indicar as variedades Sol da manhã, Cunha 01, Amarelão 02, Pixurum 05 e Pixurum 06.

### **c. Grits**

Para a obtenção de grits os grãos devem ser degerminados, moídos e conter aproximadamente 90% de amido. Estes produtos são destinados principalmente às indústrias de alimentos, bebidas e para extrusão plástica. O grão deve ser caracterizado com baixos índices de cinzas, ou material inorgânico, apresentar alto

rendimento na moagem e baixo conteúdo de lipídios. Para preencher os requisitos, o cultivar Pixurum 06 demonstrou-se o mais adequado.

#### **d. Canjica**

A coloração branca da variedade MPA 13 a elege a mais indicada para a fabricação de canjica.

#### **e. Polenta**

Para que a polenta tenha uma boa qualidade final, alguns fatores devem ser levados em consideração. O milho desatinado a produção de fubá deve apresentar um alto conteúdo de amido, e ainda, este deve ter um alto poder de gelatinização e baixo índice de retrogradação. As variedades Roxo e Rosado são as de melhor aplicação neste segmento.

## CONCLUSÃO GERAL.

- Estes cultivares podem ser considerados como fonte energética, devido ao seu teor elevado de carboidratos e lipídios, além de contribuírem com um conteúdo de fibras razoável em uma dieta balanceada.
- Os teores de ácidos graxos encontrados foram altos para os ácidos oléico e linoléico.
- Através da construção de dendogramas de dissimilaridade, pode-se constatar que uma variabilidade genética existe entre as variedades, aumentando o interesse pelos cultivares, já que este fato contribui para a preservação da espécie.
- Pela microscopia eletrônica de varredura, pode-se observar a aparência dos grânulos de amido em endospermas duros e moles. Os grânulos poligonais foram característicos de endospermas duros, já grânulos redondos e com estrutura intacta são característicos de endospermas moles. Endospermas moles apresentam espaços aéreos entre os grânulos de amido, e a presença de ar diminui o índice dos fatores de qualidade do milho.
- Dentre os fatores de qualidade, o mais importante é a dureza, a qual é associada com a presença de  $\alpha$ -zeínas. Como visto em SDS-PAGE, todas as frações estudadas apresentaram esta proteína. Entretanto, para afirmar que as amostras apresentam representa um endosperma de características físicas próprias para manuseio, armazenamento, transporte e moagem com bom rendimento, um estudo aprofundado da quantificação destas proteínas se faz necessário.

- A maior viscosidade final foi observada para a amostra Rosado. O alto conteúdo protéico e de amido influenciaram este resultado, podendo ter havido a formação de cadeias entre as proteínas, contribuindo para um aumento da viscosidade juntamente com o amido presente na farinha.
- O estudo das farinhas permitiu observar que a presença de outros componentes além do amido contribuiu para a formação de um gel fraco.
- A suspensão formada por farinha obtida do grão inteiro resultou em valores de  $G'$  e  $G''$  menores do que aqueles descritos para suspensões purificadas de amido, assim como descrito anteriormente na literatura.
- O conhecimento das características químicas e reológicas do milho contribuem para o desenvolvimento de produtos a base de farinha de milho proveniente destes cultivares, tanto para usos doméstico quanto industrial.
- O conhecimento das características destas variedades pode vir a beneficiar pequenos produtores, e conseqüentemente resultar em vantagens como a preservação da cultura, o mantimento das características específicas dos cultivares e a autonomia com relação ao sistema de produção.



## **SUGESTÕES PARA FUTUROS TRABALHOS.**

- Avaliar a utilização das farinhas de milho crioulo em produtos alimentícios;
- Caracterizar as subclasses das proteínas de reserva e avaliar a influência genética neste aspecto;
- Avaliar os métodos de extração das proteínas água- e sal-solúveis descritos na literatura;
- Quantificar a composição de aminoácidos das amostras;
- Realizar a extração do amido, e deste:
  - Avaliar a influência das características genéticas;
  - Analisar a estrutura granular do amido nativo;
  - Promover estudos das propriedades de gelatinização e retrogradação;
  - Estudar as propriedades dinâmicas oscilatórias;
  - Avaliar a influência da razão entre amilose e amilopectina;
  - Analisar o comportamento do amido em produtos alimentícios.

